



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ESTUDO PILOTO PROSPETIVO – SÉRIE DE CASOS DE AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE UM PARTICULADO DE DENTINA AUTÓGENA

Trabalho submetido por
Bianca dos Reis Lobato
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Outubro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ESTUDO PILOTO PROSPETIVO – SÉRIE DE CASOS DE AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE UM PARTICULADO DE DENTINA AUTÓGENA

Trabalho submetido por
Bianca dos Reis Lobato
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Mestre Alexandre Santos

Outubro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ESTUDO PILOTO PROSPETIVO – SÉRIE DE CASOS DE AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE UM PARTICULADO DE DENTINA AUTÓGENA

Trabalho submetido por
Bianca dos Reis Lobato
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Mestre Alexandre Santos

e coorientado por
Professor Doutor Paulo Maia

Outubro de 2016

Dedicatória

Dedico este trabalho de investigação
às duas pessoas mais importantes da
minha vida, os meus pais.

*“O que vale a pena ser feito vale a pena
ser bem feito”.*

Nicolas Poussin

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em particular, ao meu orientador, Mestre Alexandre Santos, por me ter proporcionado a oportunidade de poder participar num projeto de investigação como este, e por ter acreditado que estaria à altura do desafio. Agradeço-lhe por todo o apoio e incentivo mediante as dificuldades encontradas durante a realização deste trabalho. A sua exigência motivou-me a querer fazer sempre melhor. Obrigada por tudo.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Paulo Maia, por toda a sua colaboração durante a realização deste trabalho, pela sua disponibilidade e rigor constantes.

À Professora Doutora Maria Alzira Cavacas, pela preciosa ajuda na avaliação histológica das amostras, por toda a paciência, carinho e disponibilidade.

Ao Gonçalo Borrecho, por toda a colaboração na preparação laboratorial das amostras, pelo empenho demonstrado durante o processo, pela disponibilidade para esclarecer as minhas dúvidas, por todo o apoio e amizade.

Aos meus pais, a quem devo tudo o que sou hoje. Obrigada pelo vosso amor, pela amizade, pela paciência e pelo apoio incondicional. Vocês são sempre os primeiros a acreditar em mim e nas minhas capacidades. Ensinarão-me a lutar por aquilo em que acredito e lutaram do meu lado todos os dias. Mostraram-me que vale a pena todo o esforço, que vale a pena fazer bem feito. Foram incansáveis durante todo o meu percurso académico e nunca me deixaram desistir. É graças a vocês que o meu sonho se tornou realidade. Esta conquista é nossa.

Ao meu namorado, o amor da minha vida. Obrigada por me fazeres tão feliz todos os dias, por me tranquilizares nos momentos mais difíceis, por me transmitires força quando ela parece faltar e por me compreenderes como ninguém. O teu amor, a tua amizade e o teu apoio foram fundamentais para mim. Ter-te do meu lado torna este momento ainda mais especial.

Resumo

Introdução: As inúmeras semelhanças que apresenta com o osso alveolar, relativamente à estrutura e composição, e a sua elevada disponibilidade, na medida em que corresponde a 85% da estrutura dentária, tornam a dentina um potencial biomaterial em regeneração óssea. Se por um lado, pode ser utilizada como um substituto ósseo, por outro, representa uma fonte de fatores de crescimento.

Objetivos: Avaliar clínica, radiográfica e histologicamente a utilização de um particulado de dentina autógena mineralizada, como biomaterial, em dez casos de regeneração óssea, com posterior colocação de implantes orais.

Materiais e Métodos: Após o cumprimento dos pressupostos ético-legais e da aplicação dos critérios de inclusão e de exclusão, foi realizada uma avaliação inicial pré-cirúrgica a dez pacientes que compareceram à Clínica Dentária Egas Moniz e à Clínica Dr. Alexandre Santos. Na consulta seguinte, foram efetuadas a extração, a preparação do dente autólogo e a regeneração óssea da loca cirúrgica. Após um “*follow-up*” de seis meses, todos os pacientes realizaram CBCT, na localização previamente regenerada, que foi analisada através das unidades de *Hounsfield*. De seguida, foi efetuada a cirurgia de colocação dos implantes orais e de recolha de um fragmento ósseo, para posterior avaliação histológica.

Resultados: Não se verificaram quaisquer complicações pós-operatórias. A avaliação radiográfica evidencia a formação de osso D2-D3. A colocação de implantes orais, com uma ancoragem adequada, foi possível em todos os casos. A avaliação histológica sugeriu que a dentina estabelece com o tecido osteóide uma relação de anquiose, fusão ou interdigitação e a estrutura tecidular resultante é compatível com osteodentina.

Conclusão: O presente estudo piloto sugere que a dentina apresenta um elevado potencial de utilização, como biomaterial, em regeneração óssea. A dentina estabelece um contacto direto com a matriz osteóide, revela boa integração tecidular, propriedades osteocondutoras e osteoindutoras. No entanto, é necessário realizar mais estudos prospetivos clínicos e histomorfométricos, com uma maior amostra, bem como ensaios clínicos randomizados e controlados.

Palavras-Chave: Enxerto de dentina autógena; Matriz dentinária; Enxerto de dente autólogo; Enxerto ósseo; Regeneração óssea; Dentina na engenharia tecidular óssea;

Abstract

Introduction: The innumerable similarities with alveolar bone, in relation to structure and composition, and its high availability, to the extent that comprise 85% of tooth structure, make dentin a potential biomaterial in bone regeneration. If on one hand, it can be used as a scaffold, on the other hand, represents a source of growth factors.

Objectives: Evaluate clinical, radiographic and histologically the use of a particulate autogenous mineralized dentin as a biomaterial in ten cases of bone regeneration, with subsequent placement of oral implants.

Materials and Methods: After the fulfillment of ethical and legal requirements and the application of the inclusion and exclusion criteria, a pre-surgical initial evaluation was performed to ten patients who attended “*Clínica Dentária Egas Moniz*” and “*Clínica Dr. Alexandre Santos*”. In the next appointment, it was performed the extraction, the preparation of the autologous tooth and the bone regeneration of the surgical wound. After a six months follow-up, all patients underwent CBCT of the previously regenerated location, which was analyzed by the Hounsfield units. Then, it was performed the oral implants surgery and collected a bone fragment, for subsequent histological analysis.

Results: There were no postoperative complications. Radiographic evaluation showed formation of a D2-D3 bone. The placement of oral implants, with a suitable anchorage, was possible in all cases. Histological evaluation suggests that dentin establishes ankyloses, inter-fusion or interdigitation and the resultant tissue structure is compatible with osteodentin.

Conclusion: The present pilot study suggests that dentin has a lot of potential for application as biomaterial in bone regeneration. Dentin establishes a direct contact with osteoid matrix and reveals a good tissue integration, osteoconductive and osteoinductive proprieties. However, more prospective clinical and histomorphometric studies, with larger sample sizes, will be needed, as well as randomized controlled trials.

Keywords: Autogenous dentin graft; dentin matrix; autogenous tooth bone graft; bone graft; bone regeneration; dentin in bone tissue engineering;

Índice Geral

I. INTRODUÇÃO	13
1. Regeneração Óssea	13
2. Processo de Cicatrização do Osso Alveolar	14
3. Preservação Alveolar	19
4. Enxertos Ósseos	21
5. Regeneração Óssea Guiada	23
6. Xenoenxertos	24
6.1 Xenoenxertos de Origem Bovina e Doença Priónica	25
7. Dentina e Osso Alveolar	26
8. Dentina como Biomaterial em Regeneração Óssea	30
9. Métodos de Processamento da Dentina	32
9.1 Extração das Proteínas Não-Colagénicas	33
9.2 Desmineralização	34
9.2.1 Material de Enxerto Ósseo de Dente Autógeno	37
9.3 Eliminação da Matriz Orgânica	39
9.4 Preparação e Aplicação da Dentina Inalterada	40
10. “ <i>Smart Dentin Grinder</i> ®” (Kometabio, USA)	41
11. Evidência Científica	42
II. OBJETIVOS	57
1. Hipóteses de Estudo	57
III. MATERIAIS E MÉTODOS	59
1. Critérios de Inclusão	59
2. Critérios de Exclusão	59
3. Cronograma do Estudo	60
4. Protocolo Experimental	62
5. Protocolo Laboratorial de Processamento Histológico	64

IV. RESULTADOS	67
1. Caracterização da Amostra	67
2. Avaliação Clínica	69
3. Avaliação Radiográfica	69
4. Avaliação Histológica	70
5. Análise Estatística Descritiva	75
V. DISCUSSÃO	77
1. Relevância do Estudo	77
2. Análise da Metodologia Empregue	78
3. Interpretação da Avaliação Histológica	82
4. Perspetivas Futuras	86
VI. CONCLUSÃO	87
VII. BIBLIOGRAFIA	89
VIII. ANEXOS	

Índice de Figuras

Figura 1 – Método radiográfico de monitorização do processo de descalcificação	65
Figura 2 – Gráfico: caracterização da amostra quanto ao género	67
Figura 3 – Gráfico: caracterização da amostra quanto à idade	67
Figura 4 – Gráfico: caracterização da amostra quanto à posição na arcada do dente extraído	68
Figura 5 – Gráfico: caracterização da amostra quanto ao motivo da extração	68
Figura 6 – Gráfico: caracterização da amostra quanto à posição na arcada do defeito ósseo	69
Figura 7A – Fotomicrografia: arquitetura do osso alveolar pré-existente	70
Figura 7B – Fotomicrografia: tecido compatível com osteodentina	72
Figura 7C – Fotomicrografia: união entre duas estruturas no tecido tipo-osteodentina	72
Figura 8 – Fotomicrografia: deposição da matriz tipo-osteóide	73
Figura 9A – Fotomicrografia: pontes de tecido conjuntivo entre fragmentos de dentina	74
Figura 9B – Fotomicrografia: fragmentos de dentina, em corte oblíquo e transversal, unidos por tecido conjuntivo	74
Figura 10 – Gráfico: observação histológica de dentina remanescente	75
Figura 11 – Gráfico: observação histológica de matriz tipo-osteóide	75
Figura 12 – Gráfico: observação histológica de fibroblastos a diferenciarem-se em osteoblastos	76

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Fatores de crescimento e suas funções no processo de cicatrização do osso alveolar	18
Tabela 2 – Fatores de crescimento da matriz dentinária mineralizada	29
Tabela 3 – Estudos do processamento da dentina através da extração de NCPs	34
Tabela 4 – Estudos do processamento da dentina através da sua desmineralização	36
Tabela 5 – Estudos clínicos sobre a utilização da dentina autógena como biomaterial em regeneração óssea	43
Tabela 6 – Estudos “ <i>in vitro</i> ” e “ <i>in vivo</i> ” sobre a utilização da dentina como biomaterial em regeneração óssea	51
Tabela 7 – Escala das unidades de <i>Hounsfield</i>	61

Lista de Siglas

ACP – Fosfato de cálcio amorfo

ADM - Adrenomedulina

ADDM – Matriz de dentina autógena desmineralizada

ADDM Slices – Fragmentos de matriz de dentina autógena desmineralizada

AutoBT[®] – Material de enxerto ósseo de dente autógeno

AutoBT-Block[®] – Material de enxerto ósseo de dente autógeno em bloco

AutoBT-Enamel[®] – Material de enxerto ósseo de dente autógeno tipo-coronário

AutoBT-Dentin[®] – Material de enxerto ósseo de dente autógeno tipo-radicular

AutoBT-Powder[®] – Material de enxerto ósseo de dente autógeno em pó

Auto-FDT[®] – Material de enxerto ósseo de dente autógeno desmineralizado

BMP-2 – Proteína morfogénica óssea 2

BMP-4 – Proteína morfogénica óssea 4

BMP-7 – Proteína morfogénica óssea 7

BMPs – Proteínas morfogénicas ósseas

BSE – Encefalopatia espongiforme bovina

BSP – Sialoproteína óssea

CBCT – Tomografia computadorizada de feixe cónico

CDDM – Matriz dentinária completamente desmineralizada

DDM – Matriz dentinária desmineralizada

DDM Slices – Fragmentos de matriz dentinária desmineralizada

DMP-1 – Proteína específica da matriz dentinária 1

DMP-2 – Proteína específica da matriz dentinária 2

DMP-4 – Proteína específica da matriz dentinária 4

DMPs – Proteínas específicas da matriz dentinária

DRD – Dentina radicular desmineralizada

DSP – Sialoproteína dentinária

DPP – Fosforina dentinária

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

EDS – Espetroscopia de energia dispersiva

EGF – Fator de crescimento epidermoide

ELISA – Ensaio de imuno-absorção enzimática

FGF-2 – Fator de crescimento fibroblástico 2

FGF-7 – Fator de crescimento fibroblástico 7

IGF-I – Fator de crescimento “*insulina-like*” 1

IGF-II – Fator de crescimento “*insulina-like*” 2

ISQ – Coeficiente de estabilidade implantar

HA - Hidroxiapatite

HCL – Ácido hidrocloreídrico

HGF – Fator de crescimento dos hepatócitos

H&E – Hematoxilina-eosina

KGF – Fator de crescimento dos queratinócitos

MMPs – Metaloproteinases

MTA – Agregado trióxido mineral

NAOH – Hidróxido de sódio

NCPs – Proteínas não-colagénicas

OCP – Fosfato octocálcico

PBS – Solução salina tampão fosfatada

PDDM – Matriz dentinária parcialmente desmineralizada

PDGF – Fator de crescimento derivado das plaquetas

PIGF – Fator de crescimento derivado da placenta

PTH – Hormona paratiroide

PTFE - Politetrafluoroetileno

PrPC – Proteína priónica celular

PrPSc – Isómero patológico da proteína priónica celular

ROG – Regeneração óssea guiada

RVGs - Radiovisiografias

SEM – Microscopia eletrónica de varrimento

TGF- β – Fator de crescimento tumoral beta

TGF- β 1 – Fator de crescimento tumoral beta 1

TGF- β 2 – Fator de crescimento tumoral beta 2

TGF- β 3 – Fator de crescimento tumoral beta 3

UDD – Dentina mineralizada

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

XRD – Difração de raio-x

β -TCP – Fosfato tricálcico beta

I. INTRODUÇÃO

1. Regeneração Óssea

O osso alveolar é um órgão único, dotado da capacidade de autorreparação e regeneração (Tang et al., 2016).

No entanto, as suas propriedades reparadoras e regenerativas podem ser comprometidas por traumatismos, infecções crônicas, doenças sistêmicas, defeitos congênitos ou resseções cirúrgicas de tumores malignos e metástases, que provocam o aparecimento de defeitos ósseos na cavidade oral. Estes necessitam, na maioria das vezes, de tratamento clínico através da aplicação de técnicas de regeneração óssea (Pilipchuk et al., 2015; Tang et al., 2016).

O processo de regeneração óssea é regulado por diversos fatores de crescimento. Por definição é “uma cascata complexa e multifatorial de eventos biológicos, que incluem a migração, a proliferação, a adesão e a diferenciação celular, para além da neoformação vascular” (Peres & Lamano, 2011).

Atualmente, a utilização de enxertos em regeneração óssea é um procedimento de elevada fiabilidade e previsibilidade (Pang et al., 2016).

A escolha do enxerto depende das suas propriedades biomecânicas, tamanho, forma, volume, manuseamento clínico e custo associado, bem como das dimensões do defeito ósseo que se pretende regenerar (Tang et al., 2016).

A regeneração óssea pode ser alcançada através de mecanismos de osteogénese, osteoindução e/ou osteocondução (Liu & Kerns, 2014; Tang et al., 2016).

A osteogénese consiste na formação de tecido ósseo, mesmo na ausência de células estaminais mesenquimais indiferenciadas (Liu & Kerns, 2014).

A osteoindução, por sua vez, caracteriza-se pela transformação das células estaminais mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos, através da ação de fatores de crescimento exclusivamente ósseos (Liu & Kerns, 2014). Numa primeira fase, os fatores de crescimento atuam como mediadores no recrutamento das células mesenquimais. Posteriormente, estas diferenciam-se em osteoblastos, que após o processo de maturação, adquirem a capacidade de sintetizar a fase orgânica da matriz óssea, também designada por osteóide. Por fim, ocorre a formação ectópica do tecido ósseo (Miron & Zhang, 2012).

A osteocondução, por outro lado, é um mecanismo através do qual um enxerto permite a deposição de novo tecido ósseo, a partir do osso circundante, ou induz a diferenciação de células mesenquimais ao longo da sua superfície. Os materiais osteocondutores estimulam o recrutamento e a migração de células potencialmente osteogénicas, tais como osteoblastos, células perivasculares e células estaminais da medula óssea, para o local de formação da matriz extracelular (Liu & Kerns, 2014; Morjaria, Wilson, & Palmer, 2014).

Em detrimento da sua origem e composição, todos os enxertos ósseos apresentam pelo menos um dos mecanismos de ação anteriormente descritos (Liu & Kerns, 2014).

A regeneração óssea revolucionou a terapia implantar, que constitui, atualmente, uma opção terapêutica, de sucesso comprovado, na reabilitação do edentulismo parcial e total. A existência de dimensões ósseas adequadas é um pré-requisito fundamental para a colocação de implantes orais, numa posição estética e funcionalmente favorável. Assim, através da aplicação de técnicas regenerativas do osso alveolar é possível obter uma posição implantar prosteticamente ideal, em localizações anteriormente consideradas inadequadas para a reabilitação com implantes. Por outro lado, a regeneração óssea não parece comprometer a taxa de sobrevivência implantar (Milinkovic & Cordaro, 2014; Donos, Dereka & Mardas, 2015; Pang et al., 2016). Jung et al (2013) concluíram que, em reabilitações prostodônticas fixas parciais ou totais removíveis, as taxas de sobrevivência implantar são muito semelhantes, em osso alveolar regenerado e não regenerado, apresentando valores de 93,2% e 94,6%, respetivamente (Pang et al., 2016).

As características do osso alveolar que influenciam a sua resistência à fratura, e que incluem a densidade óssea mineral e a microestrutura trabecular, são determinantes na obtenção da estabilidade primária implantar. Por outro lado, a estabilidade primária dos implantes orais determina a sua osteointegração, e por isso, é considerado o fator mais importante no sucesso a longo prazo deste tipo de reabilitação prostodôntica (Parsa, Ibrahim, Hassan, van der Stelt, & Wismeijer, 2013).

2. Processo de Cicatrização do Osso Alveolar

O osso alveolar ou processo alveolar consiste no prolongamento do osso basal da maxila e da mandíbula. O seu desenvolvimento ocorre concomitantemente com o processo de erupção dentária (Araújo et al., 2015; Jambhekar, Kerns, & Bidra, 2015; Pilipchuk et al., 2015). Em conjunto com o ligamento periodontal, a gengiva e o cimento, integra o periodonto, conferindo suporte estrutural ao dente (Pilipchuk et al., 2015). Para além disso, é um órgão dependente do dente, na medida em que as suas características

morfológicas dependem de fatores como o tamanho, a forma, o local de erupção e a inclinação dentária (Araújo et al., 2015).

Um dente tem indicação para extração quando não é passível de ser restaurado ou mantido na cavidade oral em condições aceitáveis de saúde, função e estética (Avila-Ortiz, Elangovan, Kramer, Blanchette, & Dawson, 2014).

Uma extração desencadeia uma série de eventos biológicos que resultam numa reabsorção óssea vertical e horizontal, aparentemente progressiva e irreversível, mesmo com a colocação de um implante oral imediato (Araújo, da Silva, de Mendona, & Lindhe, 2014; Avila-Ortiz et al., 2014; Jambhekar et al., 2015; Pilipchuk et al., 2015).

Por norma, uma extração representa um procedimento traumático que envolve a disrupção dos tecidos moles, a lesão e/ou destruição das fibras de “*Sharpey*” e das estruturas vasculares do ligamento periodontal (Araújo et al., 2015).

Consequentemente, os processos de reparação, que se iniciam, afetam os tecidos duros, como o osso alveolar, e os tecidos moles, como o ligamento periodontal e a gengiva (Jambhekar et al., 2015).

O osso alveolar, por sua vez, passa por um processo de cicatrização que se caracteriza por três fases sequenciais. Estas denominam-se fase inflamatória, fase proliferativa e fase modeladora ou remodeladora. Por vezes, as diferentes fases do processo podem sobrepor-se (Araújo et al., 2015).

A fase inflamatória inclui dois eventos biológicos principais, a formação de um coágulo sanguíneo e a migração de células inflamatórias para a zona da ferida operatória (Araújo et al., 2015).

Após uma extração, o alvéolo dentário é imediatamente preenchido por sangue. Forma-se um coágulo sanguíneo, composto, maioritariamente, por eritrócitos e plaquetas, que se encontram aprisionados numa matriz fibrosa. Uma vez formado, o coágulo provoca a obstrução dos vasos sanguíneos alveolares, interrompendo, consequentemente, a hemorragia (Wang & Lang, 2012; Araújo et al., 2015).

Num período de dois a três dias, verifica-se uma concentração de células inflamatórias na zona da ferida operatória. Estas células, em conjunto com os vasos sanguíneos e os fibroblastos imaturos, são responsáveis pela formação do tecido de granulação. No terceiro dia após a extração, o tecido de granulação substituiu na totalidade o coágulo sanguíneo e quatro dias depois, forma-se uma matriz de tecido conjuntivo, rica em leucócitos e fibras colagénicas, que substitui por completo o tecido de granulação (Wang & Lang, 2012; Araújo et al., 2015).

A fase proliferativa caracteriza-se por dois fenômenos principais, a formação rápida e intensa de tecido fibroso, com deposição de uma matriz provisória, e a formação de osso imaturo ou “*woven bone*”. Após a sua deposição, a matriz provisória é invadida por vasos sanguíneos, osteoblastos e projeções digitais de osso imaturo. Posteriormente, o osso imaturo rodeia por completo os vasos sanguíneos da matriz, constituindo um “*osteon*” primário, a unidade básica estrutural e metabólica do osso cortical (Araújo et al., 2015; Gong et al., 2015; Lang & Lindhe, 2015).

O osso imaturo surge no alvéolo dentário num período de duas semanas após a extração, apresenta um caráter provisório, não possui capacidade de suporte de cargas e pode permanecer no alvéolo por várias semanas (Araújo et al., 2015).

A fase modeladora ou remodeladora caracteriza-se por uma série de alterações ósseas alveolares. O processo de modelação implica modificações na forma e na arquitetura ósseas. É o que acontece quando a reabsorção óssea provoca uma alteração dimensional da crista alveolar. No processo de remodelação, o tecido ósseo sofre alterações, no entanto mantém a sua forma e arquitetura iniciais. É o que acontece na substituição do osso imaturo por osso lamelar ou por medula óssea. A remodelação inicia-se trinta dias após a extração, mas para que o osso imaturo seja totalmente substituído, são necessários vários meses a anos (Wang & Lang, 2012; Araújo et al., 2015).

Algumas semanas após a extração, os osteoclastos migram para a crista óssea das paredes alveolares, vestibular e lingual, e para ambas as porções do alvéolo, interna e externa, provocando, desta forma, uma modelação óssea equitativa em ambas as paredes. No entanto, a tábua óssea lingual é mais larga e, por isso, a reabsorção óssea vertical é maior na tábua vestibular, mais fina. Nos primeiros três meses de cicatrização, ocorre cerca de dois terços da totalidade do processo de modelação (Araújo et al., 2015).

Cerca de três a seis semanas após a extração, é visível, radiograficamente, o preenchimento do alvéolo dentário por tecido ósseo (Araújo et al., 2015).

Dois meses após a extração, a mucosa marginal encontra-se separada do alvéolo por tecido duro e o osso imaturo central é substituído por osso esponjoso (Wang & Lang, 2012).

Quando o processo de cicatrização termina, cerca de dez a vinte semanas após a extração, é visível, clinicamente, um epitélio de consistência firme a encerrar a entrada do alvéolo (Araújo et al., 2015).

Seis meses após a extração, a maior parte do osso imaturo foi substituído por osso lamelar (Wang & Lang, 2012).

O processo de cicatrização do osso alveolar é regulado por inúmeros fatores de crescimento (Tabela 1). Estas moléculas polipeptídicas sinalizadoras interagem entre si, e como consequência, atuam como fatores iniciadores dos processos de migração, proliferação e diferenciação celulares. Para além disso, nas primeiras fases da cicatrização, constituem sinais mitogénicos e angiogénicos (Araújo et al., 2015; Smith et al., 2015).

Os níveis do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) mantêm-se constantes nas três fases do processo de cicatrização (Tabela 1), contrariamente ao que acontece com o fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e com o fator derivado das plaquetas (PDGF), que registam os seus níveis mais elevados nos primeiros dias do processo, durante a fase inflamatória. Por outro lado, a proteína morfogénica óssea 2 (BMP-2) aumenta mediante a concentração e, posterior, proliferação das células precursoras dos osteoblastos (Araújo et al., 2015).

Tabela 1 – Fatores de crescimento e suas funções no processo de cicatrização do osso alveolar (Adaptado de Lang & Lindhe, 2010).

Fase de Cicatrização	Fator de Crescimento	Origem Celular	Funções Biológicas
Inflamatória	<i>PDGF</i>	Plaquetas	Aumenta a quimiotaxia de neutrófilos e monócitos.
	<i>TGF-β</i>	Plaquetas Leucócitos Fibroblastos	Aumenta a quimiotaxia de neutrófilos e monócitos. Expressão autócrina – produção adicional de citocinas (<i>TNF-α</i> , <i>IL-1β</i> , <i>PDGF</i> , Quimiocinas).
	<i>VEGF</i>	Plaquetas Leucócitos Fibroblastos	Aumenta a permeabilidade vascular.
Proliferativa	<i>EGF</i>	Macrófagos Células Mesenquimais Plaquetas	Estimula a proliferação e a migração epitelial.
	<i>FGF-2</i>	Macrófagos Células Endoteliais	Estimula a proliferação fibroblástica e a síntese da matriz extracelular. Aumenta a quimiotaxia, proliferação e a diferenciação de células endoteliais.
	<i>KGF</i> (<i>FGF-7</i>)	Queratinócitos Fibroblastos	Estimula a proliferação e a migração epitelial.
	<i>PDGF</i>	Macrófagos Células Endoteliais	Estimula a proliferação fibroblástica e a síntese da matriz extracelular. Aumenta a quimiotaxia, proliferação e a diferenciação de células endoteliais.
	<i>TGF-β</i>	Macrófagos Leucócitos Fibroblastos	Estimula a proliferação e a migração epitelial. Estimula a proliferação fibroblástica e a síntese da matriz extracelular. Inibe as proteases e aumenta a produção dos seus inibidores.
	<i>VEGF</i>	Macrófagos	Aumenta a quimiotaxia de células endoteliais progenitoras. Estimula a proliferação de células endoteliais.

Fase de Cicatrização	Fator de Crescimento	Origem Celular	Funções Biológicas
Modeladora ou Remodeladora	<i>BMPs 2-4</i>	Osteoblastos	Estimula a migração de células mesenquimais progenitoras.
	<i>BMP-7</i>	Osteoblastos	Estimula a diferenciação de osteoblastos e condroblastos.
	<i>FGF-2</i>	Macrófagos Células Endoteliais	Estimula a migração de células mesenquimais progenitoras.
	<i>IGF-II</i>	Macrófagos Fibroblastos	Estimula proliferação osteoblástica e a síntese da matriz óssea.
	<i>PDGF</i>	Macrófagos Osteoblastos	Estimula a diferenciação de fibroblastos em mio fibroblastos. Estimula a proliferação de células mesenquimais progenitoras.
	<i>TGF-β</i>	Fibroblastos Osteoblastos	Induz a diferenciação de fibroblastos em mio fibroblastos. Estimula a quimiotaxia e a sobrevivência de osteoblastos.
	<i>VEGF</i>	Macrófagos	Quimiotaxia de células estaminais mesenquimais, efeito anti-apóptico de células formadoras de osso e promoção da angiogênese.

3. Preservação Alveolar

A reabsorção do osso alveolar depende de fatores locais e sistêmicos, como a idade do paciente no momento da extração, a localização, o tamanho e a morfologia do alvéolo dentário, o número de dentes adjacentes extraídos, a extensão do trauma provocado, o biótipo periodontal, a presença de hábitos tabágicos e de doenças sistêmicas, como a Diabetes não controlada, a variabilidade inter-individual e a motivação do paciente (Avila-Ortiz et al., 2014; Morjaria et al., 2014; Araújo et al., 2015).

Após uma extração, o osso alveolar sofre uma redução da sua largura vestibulo-lingual, que pode alcançar os 50% (Atieh et al., 2015).

A reabsorção óssea horizontal da parede vestibular do alvéolo pode atingir os 56%, enquanto a da parede lingual é geralmente igual ou superior a 30% (Horowitz, Holtzclaw & Rosen, 2012).

Seis meses após a extração, a crista óssea alveolar sofre, em média, uma redução de 3,8mm e 1,24mm em largura e altura, respetivamente (Tan, Wong, Wong, & Lang, 2012; Atieh et al., 2015).

Neste sentido, a preservação alveolar consiste em “preservar o volume da crista óssea alveolar dentro do envelope existente no momento da extração” (Hämmerle, Araújo, Simion & Araújo, 2012).

A primeira tentativa de execução deste procedimento consistiu na retenção de raízes no alvéolo dentário, com o objetivo principal de conferir uma maior estabilidade às próteses removíveis (Avila-Ortiz et al., 2014).

Atualmente, a preservação alveolar é uma técnica na qual se coloca, imediatamente após a extração, e no mesmo tempo cirúrgico, um enxerto ósseo e/ou um agente biológico no alvéolo dentário (Alkan, Parlar, Yildirim, Sengüven, 2013)

Os principais objetivos desta técnica consistem em manter a arquitetura dos tecidos e as dimensões da crista óssea alveolar, simplificando os tratamentos implantares subsequentes, na medida em que torna possível a obtenção de um volume adequado de tecidos moles e duros (Hämmerle et al., 2012; Atieh et al., 2015).

Por outro lado, a colocação imediata de implantes orais nem sempre é recomendada ou possível. Em zonas estéticas, por exemplo, está associada a elevadas taxas de recessão gengival. Por outro lado, o clínico depara-se frequentemente com a impossibilidade de colocar implantes orais imediatos perante a ausência de estabilidade primária implantar (Atieh et al., 2015; Hämmerle et al., 2012).

Quando a reabilitação com implantes orais se realiza posteriormente ao momento da extração, deve considerar-se a possibilidade de realizar preservação alveolar, sempre que haja indicação para tal (Hämmerle et al., 2012).

O clínico tem indicação para realizar este procedimento quando a tábua óssea vestibular apresenta uma espessura inferior a 1,5-2mm, quando verifica a ausência de, pelo menos, uma parede alveolar e quando pretende evitar a realização de uma cirurgia de elevação do seio maxilar, para posterior colocação de implantes orais (Darby, Chen & Poi, 2008; Hämmerle et al., 2012; Kim et al., 2014b).

Em pacientes que tomam bifosfonatos, em locais submetidos previamente a radioterapia, e na presença de uma infeção, que não possa ser eliminada durante a cirurgia, a preservação alveolar está contraindicada (Hämmerle et al., 2012).

Inúmeros estudos comprovaram que a preservação alveolar, com recurso a biomateriais, reduz significativamente a reabsorção vertical e horizontal da crista óssea alveolar e, conseqüentemente, as alterações dimensionais verificadas são menores, quando comparadas com as que ocorrem na ausência deste procedimento (Vignoletti et al., 2012; Araújo et al., 2014; Avila-Ortiz et al., 2014; Atieh et al., 2015).

Não existem “*guidelines*”, suportadas por evidência científica, sobre o biomaterial mais adequado para a preservação alveolar (Araújo et al., 2014).

Ainda assim, a utilização de xenoenxertos e de aloenxertos resulta em menores alterações dimensionais comparativamente às verificadas após a aplicação de materiais aloplásticos. A redução média da largura vestibulo-lingual da crista óssea alveolar, após a utilização de xenoenxertos, aloenxertos ou materiais aloplásticos é de 1,3mm, 1,63mm e 2,13mm, respetivamente. Por outro lado, a redução média da altura da parede vestibular alveolar, após a utilização de xenoenxertos, aloenxertos ou materiais aloplásticos é de 0,57mm, 0,58mm e 0,77mm, respetivamente. (Jambhekar et al., 2015).

Os casos de insucesso após a preservação alveolar e a variabilidade dos resultados obtidos podem ser explicados pelo facto dos padrões de reabsorção óssea serem significativamente influenciados por fatores locais e sistémicos relacionados com o paciente (Avila-Ortiz et al., 2014; Morjaria, Wilson & Palmer, 2014; Araújo et al., 2015)

4. Enxertos Ósseos

Um enxerto ósseo é uma estrutura sólida de suporte, que apresenta na sua constituição uma rede porosa e tem como principal função permitir a colonização, a proliferação, a migração e a diferenciação celular (Tang et al., 2016).

Quando aplicado num alvéolo dentário após uma extração, desencadeia, numa fase inicial, uma resposta por parte do hospedeiro, que se caracteriza por um aumento da atividade de células inflamatórias, particularmente macrófagos, e de células osteoclásticas (Morjaria, Wilson, & Palmer, 2014).

Os efeitos tecidulares, celulares e moleculares de um enxerto dependem da sua morfologia, composição química, porosidade e do tamanho das suas partículas (Morjaria, Wilson & Palmer, 2014).

O enxerto ósseo ideal deve ser biocompatível, isto é, permitir uma atividade celular normal e não provocar toxicidade no hospedeiro, particularmente durante a sua reabsorção e substituição por novo osso. Por outro lado, deve possuir um padrão de reabsorção satisfatório, permitindo a criação de espaço para a formação de novo tecido ósseo. Deve exibir um comportamento semelhante ao osso alveolar, quando sujeito a cargas mecânicas, e a sua porosidade deve permitir a difusão de nutrientes e de oxigénio, e consequentemente, a proliferação e sobrevivência celular. Para um crescimento ósseo ótimo, o tamanho dos poros do enxerto deve variar entre 200 e 350µm (Tang et al., 2016).

Os enxertos podem ser classificados, de acordo com a sua origem, em autoenxertos, aloenxertos, heteroenxertos e materiais aloplásticos (Yip, Ma, Mattheos, Dard & Lang, 2014; Koga et al., 2016).

Os autoenxertos ou enxertos de osso autólogo têm origem no hospedeiro. Possuem propriedades osteogénicas, osteoindutoras e osteocondutoras, e por isso, são considerados o “*gold standard*” em regeneração óssea (Liu & Kerns, 2014; Yip et al., 2014; Pang et al., 2016; Koga et al., 2016; Kim et al., 2013a). No entanto, a disponibilidade e a quantidade limitada de osso autólogo, a morbilidade pós-cirúrgica do local dador, a elevada reabsorção do enxerto, que pode ultrapassar os 50% e, consequentemente, comprometer os resultados, e a falta de vascularização, constituem as suas principais desvantagens (Yip et al., 2014; Koga et al., 2016; Tang et al., 2016).

Os aloenxertos ou enxertos alógenos têm origem em indivíduos da mesma espécie. São materiais osteocondutores, por vezes osteoindutores, mas nunca osteogénicos (Yip et al., 2014; Liu & Kerns, 2014; Koga et al., 2016). Comparativamente aos autoenxertos, possuem menores propriedades mecânicas (Binderman et al., 2012).

Os heteroenxertos ou xenoenxertos derivam de dadores de outras espécies. Por outro lado, os materiais aloplásticos possuem uma origem sintética. Ambos são, por norma, materiais exclusivamente osteocondutores (Yip et al., 2014; Liu & Kerns, 2014; Koga et al., 2016).

Os aloenxertos e os xenoenxertos têm uma elevada disponibilidade e não acarretam morbilidade pós-cirúrgica, contrariamente aos autoenxertos. Por outro lado, as suas desvantagens incluem a ausência de propriedades osteogénicas, a falta de vascularização, o risco de rejeição relativamente elevado, o risco de transmissão de doenças e o elevado custo associado (Tang et al., 2016).

Os materiais aloplásticos apresentam um custo mais baixo, quando comparado com os aloenxertos e xenoenxertos, e não possuem risco de transmissão de doenças. No entanto, não apresentam propriedades osteogénicas e as suas propriedades osteoindutoras são fracas (Kim et al., 2010).

Comparativamente ao “*gold standard*”, os aloenxertos, os xenoenxertos e os materiais aloplásticos, possuem menores funções, maior risco de infeção, padrões de reabsorção menos satisfatórios, maior tempo de cicatrização e custos mais elevados (Kim, 2015).

De uma maneira geral, os principais problemas associados à utilização de enxertos ósseos relacionam-se com a falta de vascularização, substituição parcial do material de enxerto por novo osso, desempenho inconsistente, insucesso no restabelecimento da

altura da crista óssea alveolar, tempo de cicatrização prolongado e risco de transmissão de doenças, como é exemplo a doença priônica transmissível através da utilização de xenoenxertos de origem bovina (Morjaria, Wilson & Palmer, 2014; Kim, Rodriguez & Nowzari, 2016).

Desta forma, é necessário desenvolver um material de enxerto capaz de promover eficazmente a regeneração óssea e ultrapassar as limitações dos autoenxertos, aloenxertos, xenoenxertos e materiais aloplásticos utilizados, atualmente, em regeneração óssea (Kim et al., 2010).

O material de enxerto ideal deve apresentar, para além das características, anteriormente descritas, componentes orgânicos e inorgânicos na sua constituição, de forma a promover uma remodelação óssea alveolar rápida e, consequentemente, permitir a obtenção de um prognóstico mais favorável (Kim et al., 2010).

5. Regeneração Óssea Guiada

Durante a cicatrização do osso alveolar após uma extração, as células que integram os tecidos moles proliferam tão rapidamente quanto as células ósseas. Consequentemente, os defeitos ósseos tendem a ficar preenchidos por tecido mole, o que pode comprometer o processo de osteogénese (Morjaria, Wilson & Palmer, 2014).

A regeneração óssea guiada (ROG) baseia-se em dois princípios fundamentais, prevenir o crescimento dos tecidos moles e permitir a formação de osso num espaço protegido, através da utilização de uma membrana que cobre o defeito ósseo (Morjaria, Wilson & Pamer, 2014; Turri et al., 2016).

A hipótese que está na origem do conceito da ROG estipulava que a utilização de membranas impedia as células não-osteogénicas de interferirem negativamente no processo de cicatrização do osso alveolar e, consequentemente, na formação de novo osso (Turri et al., 2016).

As membranas são hidrogéis que contêm células encapsuladas (Tang et al., 2016). Permitem a estabilização mecânica do coágulo sanguíneo e do material de enxerto, e protegem a ferida operatória, impedindo a sua disrupção mecânica, a sua contaminação por saliva e o deslocamento do enxerto (Horowitz et al., 2012; Morjaria, Wilson & Palmer, 2014; Ji-Young Lee, Junho Lee & Young-Kyun Kim, 2013).

As suas propriedades ideais incluem oclusividade celular, biocompatibilidade, integração tecidual, manutenção de espaço e facilidade de utilização. Desta forma, a aplicação de uma membrana permite a criação e a manutenção de um espaço isolado,

propício ao recrutamento e à proliferação de células osteoprogenitoras, à diferenciação de células da linhagem osteoblástica e à atividade osteogénica (Retzepi & Donos, 2010).

As membranas podem ser reabsorvíveis e não-reabsorvíveis. As reabsorvíveis, apresentam uma elevada biocompatibilidade e mantêm a sua integridade estrutural durante o processo de cicatrização. As não-reabsorvíveis, apesar dos bons resultados, apresentam como principal desvantagem a necessidade de realização de uma segunda cirurgia (Turri et al., 2016).

As membranas compostas por colagénio são atualmente muito utilizadas, na medida em que o colagénio, para além de constituir o principal componente do tecido conjuntivo, é responsável por conferir suporte estrutural às membranas (Turri et al., 2016).

No entanto, até à data, não existe evidência científica suficiente para afirmar que a utilização de uma membrana na preservação alveolar é claramente benéfica comparativamente à não utilização (Horowitz et al., 2012). De facto, não existem diferenças, estatisticamente significativas, nas alterações dimensionais e na quantidade de novo osso, observado histologicamente, após preservação alveolar, na presença e na ausência de membrana (Brkovic et al., 2012; Wang & Lang, 2012).

6. Xenoenxertos

Atualmente, os clínicos optam frequentemente pela utilização de enxertos não-autólogos, disponíveis comercialmente (Pang et al., 2016).

Os xenoenxertos são, maioritariamente, de origem bovina e equina. Para serem utilizados clinicamente, estes materiais passam por um processo de desproteinização, que visa remover completamente os seus componentes orgânicos (Lindhe & Lang, 2015).

O osso mineral inorgânico bovino desproteinizado é o xenoenxerto melhor documentado e o mais utilizado em regeneração óssea, inclusivamente em procedimentos de preservação alveolar (Heinemanna, Hasanb, Schwahna, Bourauelb & Mundta, 2012; Pang et al., 2016).

Outros xenoenxertos incluem o sulfato de cálcio, o fosfato tricálcico beta (β -TCP), a hidroxiapatite sintética (HA) e o fosfato de cálcio bifásico, que consiste numa mistura de β -TCP e HA. Os dois primeiros caracterizam-se por uma dissolução rápida e, por isso, a sua utilização resulta com frequência no aparecimento de um novo defeito ósseo. Por outro lado, a HA é insolúvel, apresentando uma taxa de degradação lenta, o que impede a aposição de novo tecido ósseo (Binderman, Hallel, Nardy, Yaffe & Sapoznikov, 2014; Wang & Lang, 2012).

Jung et al (2003) obtiveram excelentes resultados, após a utilização de xenoenxertos na regeneração óssea guiada de defeitos ósseos verticais, com uma profundidade média de 5,8mm. Concluíram, num ensaio clínico randomizado e controlado, que após a regeneração óssea guiada com xenoenxertos a taxa de preenchimento dos defeitos ósseos foi de 91%, o que correspondeu a uma redução média da sua profundidade de 5,4mm (Jung et al., 2003).

Por outro lado, Lang & Lindhe (2015), referem que os xenoenxertos apresentam ótimos resultados, particularmente, quando são utilizados no aumento horizontal de defeitos ósseos de pequenas dimensões.

Em concordância com Lang & Lindhe (2015), Cordaro, Torsello, Morcavallo & Di Torresanto (2011), sugeriram a associação de xenoenxertos a enxertos de osso autólogo, no aumento horizontal de defeitos ósseos, de forma a minimizar a reabsorção do enxerto durante o processo de cicatrização.

Cordaro et al (2011), concluíram, num ensaio clínico randomizado e controlado, que a reabsorção de 21%, registada após a utilização de enxertos de osso autólogo, desceu para 5,5% quando os autoenxertos foram cobertos por xenoenxertos e associados à colocação de uma membrana de colagénio.

6.1 Xenoenxertos de Origem Bovina e Doença Priónica

O osso bovino foi introduzido, pela primeira vez em cirurgia, por Orell em 1934 (Kim et al., 2016).

Atualmente, é o material de enxerto mais utilizado em medicina dentária, em alternativa ao osso autólogo (Kim et al., 2016; Pang et al., 2016).

O osso mineral inorgânico bovino desproteinizado possui propriedades osteocondutoras, a sua taxa de degradação é baixa e a reação tecidular que induz é mínima (Pang et al., 2016; Alayan, Vaquette, Farah & Ivanovski, 2016).

A sua matriz é porosa, não-antigénica e apresenta uma composição física e quimicamente semelhante à fase mineral do osso alveolar. Os seus poros possuem um tamanho e uma configuração adequados à promoção da angiogénese, essencial para a formação de novo osso (Alayan et al., 2016).

Este xenoenxerto está disponível no mercado na forma de grânulos de osso cortical (Bio-Oss®; Geistlich AG, Wollhusen, Switzerland) e na forma de um bloco estabilizado numa matriz de colagénio do tipo I a 10% de origem suína (Bio-Oss Collagen®, Geistlich AG, Wollhusen, Switzerland) (Alayan et al., 2016).

A utilização de xenoenxertos de origem bovina está, no entanto, associada à transmissão da encefalopatia espongiforme bovina (BSE), que raramente é abordada na literatura (Kim et al., 2016).

A BSE é uma doença priónica transmissível, que integra o grupo das doenças neuro degenerativas fatal, afetando humanos e um grande número de animais (Kim et al., 2016).

A patogenia das doenças priónicas baseia-se no incorreto enrolamento da proteína priónica celular (PrPC), que leva, consequentemente, à formação do seu isómero patológico, a proteína PrPSc. De acordo com a hipótese da “proteína única”, uma vez concluída a formação da PrPSc, esta funciona como modelo para a sua propagação, o que potencia, por sua vez, o incorreto enrolamento da PrPC, originando o ciclo patognomónico da doença (Kim et al., 2016).

A doença de “*Creutzfeldt-Jakob*” ou doença priónica humana foi descrita pela primeira vez em 1920. A BSE apresenta uma relação causal com a doença de “*Creutzfeldt-Jakob*”, uma encefalopatia espongiforme transmissível com longos períodos de incubação. A forma mais comum desta doença é a esporádica, que afeta 1 a 1,5 milhões de pessoas anualmente no mundo (Kim et al., 2016).

Os fabricantes dos materiais derivados de osso bovino reivindicam a ausência total de matéria orgânica na sua composição. No entanto, foram detetadas proteínas colagénicas no “*Bio-Oss*®” (Geistlich AG, Wollhusen, Switzerland), o que sugere a possibilidade deste material possuir a proteína PrPSc, o agente causal das doenças priónicas (Kim et al., 2016).

Os priões são resistentes a inúmeros métodos físicos e químicos de descontaminação. Para além disso, não existe evidência científica suficiente para afirmar que estas proteínas são inativadas através do tratamento térmico usado em enxertos de osso bovino inorgânico (Kim et al., 2016).

7. Dentina e Osso Alveolar

A dentina constitui o componente estrutural dentário mais volumoso (Tjäderhane, Carrilho, Breschi, Tay & Pashley, 2012; Smith et al., 2012).

À semelhança do osso alveolar, é um tecido conjuntivo mineralizado composto por uma matriz orgânica e por uma fase mineral (Tjäderhane et al., 2012; Henkel et al., 2013). Ambos possuem origem mesodérmica, no entanto a dentina também deriva de células ectodérmicas provenientes da crista neural, que migram até ao primeiro arco branquial. O osso alveolar, por outro lado, pode formar-se a partir de precursores do tecido

cartilagíneo, que são submetidos a processos de ossificação intramembranosa ou endocondral (Smith et al., 2012).

A composição química da dentina é muito idêntica à do osso alveolar. A dentina apresenta 70 a 75% de matéria inorgânica, 20% de matéria orgânica e 10% de água, enquanto o osso alveolar possui 65%, 25% e 10%, respectivamente (Tjäderhane et al., 2012; Kim, 2015).

Os principais componentes inorgânicos e orgânicos da dentina e do osso alveolar são, respectivamente, a hidroxiapatite e o colagénio do tipo I (Ravindram & George, 2015).

Os cristais de hidroxiapatite da dentina apresentam um grau de mineralização semelhante ao dos cristais de apatite do osso alveolar e inferior ao dos cristais de hidroxiapatite do esmalte (Kim et al., 2013a).

As células responsáveis pela formação da dentina e do osso alveolar são, respectivamente, os odontoblastos e os osteoblastos. A principal função destas células consiste em permitir a deposição de matrizes extracelulares mineralizadas, através da segregação de proteínas e de mediadores do processo de mineralização (Ravindram & George, 2015).

As matrizes extracelulares dos dois tecidos em comparação são constituídas em 90% por proteínas colagénicas, particularmente colagénio do tipo I (Park, Um, Young-Kyun Kim, Kyung-Wook Kim, 2012; Kim et al., 2013a).

Para além disso, apresentam na sua composição inúmeros fatores de crescimento, que após estabelecerem uma ligação aos seus recetores, são capazes de desencadear respostas biológicas tais como adesão, sobrevivência, proliferação, quimiotaxia e diferenciação celular (Smith et al., 2015; Kim et al., 2013a).

As matrizes da dentina e do osso alveolar apresentam ainda diversas proteínas morfogénicas ósseas (BMPs), em comum. Tratam-se de fatores de crescimento que integram a superfamília do TGF- β , constituindo o seu maior subgrupo (Cho et al., 2010). São responsáveis por permitir a diferenciação de células estaminais mesenquimais perivasculares em tecido ósseo (Kim et al., 2013a; Kim, 2015). A BMP-2, por exemplo, constitui um sinal muito forte para os processos de diferenciação e mineralização das principais células formadoras da dentina e do osso alveolar, os odontoblastos e os osteoblastos, respectivamente (Cho et al., 2010).

Para além das BMPs, a matriz dentinária é responsável pela libertação de outros fatores de crescimento (Tabela 2) tais como, outros membros da superfamília do TGF- β , o fator de crescimento “*insulina-like*” 1 e 2 (IGF-1 e IGF-2), o fator de crescimento fibroblástico

2 (FGF-2), o fator de crescimento derivado da placenta (PIGF), a adrenomedulina (ADM), o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e o fator de crescimento epidermoide (EGF) (Smith et al., 2012; Mazzoni et al., 2012).

Outra semelhança entre a dentina e o osso alveolar é variedade de proteínas não-colagénicas (NCPs), que integra a constituição das suas matrizes, e que não permite uma distinção fenotípica entre os dois tecidos. De facto, as proteínas específicas da matriz dentinária, a osteocalcina, a osteopontina e a sialoproteína óssea constituem alguns exemplos de proteínas não-colagénicas presentes nas matrizes extracelulares da dentina e do osso alveolar (Ravindram & George, 2015)

No entanto, as proteínas não-colagénicas surgem na dentina e no osso alveolar, em proporções distintas (Smith et al., 2012).

A fosforina dentinária (DPP), também designada por proteína da matriz dentinária 2 (DMP-2), representa 50% da totalidade das proteínas não-colagénicas da dentina e é, por isso, a mais abundante. No entanto, surge no osso alveolar, em pequenas quantidades (Goldberg et al., 2012; Ravindram & George, 2015). Esta proteína é predominantemente expressa pelos odontoblastos, e parece marcar o fim do seu processo de diferenciação celular (Smith et al., 2012; Ravindram & George, 2015). Por outro lado, promove fenómenos de nucleação e crescimento dos cristais de hidroxiapatite, tem a capacidade de se ligar ao colagénio do tipo I, e consequentemente intervir nos processos de mineralização. Desta forma, a utilização da fosforina dentinária em regeneração óssea pode ser benéfica (Kim et al., 2013a; Ravindram & George, 2015).

A sialoproteína óssea (BSP) é, por outro lado, um marcador da diferenciação dos osteoblastos, intervindo nos mecanismos de osteogénese e osteoclastogénese. Esta proteína integra também a matriz extracelular da dentina, no entanto, representa, apenas, cerca de 1% da totalidade das proteínas não-colagénicas dentinárias. O papel desta proteína na dentina permanece desconhecido. No entanto, a sialoproteína óssea consegue intensificar a formação de fibras de colagénio, promover a nucleação de cristais, bem como a adesão de células à matriz extracelular, e por isso, pode desempenhar um papel importante na dentinogénese (Goldberg et al., 2012).

Tabela 2 – Fatores de crescimento da matriz dentinária mineralizada (Adaptado de Kenneth & Berman, 2016).

Fatores de Crescimento da Matriz Dentinária Mineralizada	
TGF- β 1	Cassidy et al., 1997
TGF- β 2	Cassidy et al., 1997
TGF- β 3	Cassidy et al., 1997
BMP-2	Thomadakis et al., 1999
BMP-4	About et al., 2000
BMP-7	Thomadakis et al., 1999
IGF-I	Finkleman et al., 1990
IGF-II	Finkleman et al., 1990
HGF	Tomson et al., 2013
VEGF	Roberts-Clark e Smith et al., 2000
ADM	Musson et al., 2010

A matriz extracelular da dentina não apresenta células na sua constituição. Por outro lado, a matriz extracelular óssea possui uma composição celular complexa que inclui quatro tipos de células distintas, osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e células quiescentes (“*lining cells*”) (Smith et al., 2012).

Ao contrário da dentina, o osso é um tecido vascularizado, que se encontra em constante remodelação. Este processo deve-se à existência de interações entre os osteoblastos e os osteoclastos, à influência de hormonas e à degradação de proteínas da matriz por metaloproteinases (MMPs) (Park et al., 2012; Goldberg et al., 2012). As forças mastigatórias constituem um dos principais fatores capazes de influenciar o processo de remodelação óssea. No entanto, o mesmo não se verifica na dentina, caracterizada pela ausência de remodelação tecidular (Smith et al., 2012).

Algumas hormonas participam na fisiologia da dentina e do osso alveolar. A vitamina D e a hormona paratiroide (PTH) influenciam os mecanismos homeostáticos e de aposição de ambos os tecidos. No entanto, comparativamente à PTH, a vitamina D desempenha um papel preponderante na formação da dentina e do osso alveolar mandibular (Smith et al., 2012).

Os túbulos dentinários e o sistema canalículo-lacunar dos osteócitos apresentam inúmeras semelhanças estruturais e funcionais (Tjäderhane et al., 2012; Smith et al.,

2012). A função de ambas as estruturas é essencialmente mecanosensitiva. Por outro lado, cada túbulo dentinário principal apresenta inúmeros prolongamentos e ramificações idênticas aos prolongamentos dendríticos dos osteócitos, o que lhes permite comunicar com outras células (Tjäderhane et al., 2012; Florencio-Silva et al., 2015).

8. Dentina como Biomaterial em Regeneração Óssea

As inúmeras semelhanças entre a dentina e o osso alveolar, relativamente à estrutura e composição, motivaram os investigadores a estudar o seu potencial de utilização, como biomaterial, em regeneração óssea (Kim et al., 2013a;).

Apesar do enxerto de osso autólogo continuar a ser considerado o “*gold standard*” dos materiais de enxerto, as limitações inerentes à sua utilização tornaram necessária a procura por um biomaterial ideal, capaz de as ultrapassar (Kim et al., 2010; Kim et al., 2013a).

Atualmente, a reabilitação com implantes orais é muitas vezes precedida pela extração de dentes perdidos. Os dentes extraídos são, por norma, desperdiçados. No entanto, podem constituir um biomaterial autólogo com inúmeros benefícios em regeneração óssea (Koga et al., 2016; Tabatabaei et al., 2016).

Contrariamente ao osso alveolar o dente não apresenta uma porção medular, e o seu teor em gordura é menor, o que torna mais fácil a sua conversão num material de enxerto (Kim, 2015).

Os principais componentes minerais do dente incluem a hidroxiapatite (HA) $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, o fosfato tricálcico (TCP) (β -TCP, β - $\text{Ca}_3[\text{PO}_4]_2$), o fosfato octocálcico (OCP) ($\text{Ca}_8\text{H}_2[\text{PO}_4]_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), o fosfato de cálcio amorfo (ACP), o fosfato dicálcico di-hidratado e a brushita ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Kim, 2012; Kim et al., 2013a; Teruel, Alcolea, Hernández & Ruiz, 2015). Após a utilização do dente como material de enxerto, estes minerais interagem entre si, e são capazes de remodelar o osso alveolar pré-existente (Kim, 2012; Kim et al., 2013a).

A dentina representa mais de 85% da estrutura dentária (Binderman et al., 2014). Graças às suas características pode ser utilizada como um substituto ósseo e como uma fonte de fatores de crescimento (Tabela 2) (Tabatabaei et al., 2016).

Por outro lado, a estrutura tubular da dentina torna vantajosa a sua utilização em regeneração óssea, na medida em que os túbulos dentinários funcionam como nichos para as células osteogénicas, permitindo também a difusão de nutrientes. O diâmetro dos túbulos dentinários varia entre 900 e 2500 nm (Kim et al., 2010; Kim, 2015).

O principal constituinte orgânico da dentina, o colagénio do tipo I, representa 90% da matéria orgânica dentinária, é biocompatível e desempenha um importante papel na formação de tecido ósseo, em locais reabilitados com implantes orais (Kim et al., 2013a). Esta proteína consegue melhorar as respostas celulares às linhagens osteogénicas, e desta forma, é essencial ao processo de regeneração óssea (Kim, 2015). Para além disso, o colagénio do tipo I participa nos fenómenos de remodelação tecidular e de mineralização da dentina e do osso alveolar (Tjäderhane et al., 2012; Ravindram & George, 2015).

Os restantes 10% da matéria orgânica da dentina correspondem a glúcidos, lípidos, citrato, lactato e proteínas não-colagénicas (Kim et al., 2010; Kim et al., 2013).

À semelhança do colagénio do tipo I, as proteínas não-colagénicas são secretadas por odontoblastos e osteoblastos, durante a mineralização da dentina e do osso alveolar, respetivamente (Ravindram & George, 2015).

As proteínas específicas da matriz dentinária (DMPs), são uma família de proteínas não-colagénicas que integra as matrizes extracelulares da dentina e do osso alveolar (Ravindram & George, 2015).

A família das DMPs inclui a proteína específica da matriz dentinária 1 (DMP-1), a fosforina dentinária ou proteína específica da matriz dentinária 2 (DPP ou DMP-2, respetivamente), a sialoproteína dentinária (DSP) e a proteína específica da matriz dentinária 4 (DMP-4) (Ravindram & George, 2015).

Estas proteínas participam nos processos de adesão, proliferação e diferenciação de células estaminais e de pré-osteoblastos, bem como na mineralização da matriz extracelular dentinária (Ravindram & George, 2015).

A DMP-1, a DPP e a DMP-4 possuem a capacidade de promover a nucleação dos cristais de hidroxiapatite e de regular o processo de mineralização. Para além disso, podem intervir na diferenciação de células estaminais mesenquimais em osteoblastos, o que significa que a sua incorporação em materiais de enxerto, pode induzir a formação de novo osso. Por outro lado, a DSP atua como um inibidor do processo de mineralização, e, por isso, poderá ser utilizada em associação com proteínas como a DPP, de forma a controlar a taxa e a qualidade da mineralização dos tecidos (Bhatia et al., 2012; Ravindram & George, 2015).

Contrariamente à grande maioria das proteínas não-colagénicas dentinárias, a osteopontina não participa no seu processo de mineralização. Por outro lado, consegue despoletar a osteogénese, na medida em que induz a diferenciação precoce de células

osteoblásticas. No entanto, também participa na reabsorção óssea, uma vez que permite a adesão de células osteoclásticas às superfícies ósseas (Kim et al., 2013a).

A utilização do fenómeno de reimplantação dentária como modelo de estudo permitiu aumentar o conhecimento sobre as propriedades da dentina na regeneração de defeitos ósseos. Após a reimplantação da dentina para um defeito ósseo, esta sofre um processo de anquilose, fundindo-se com o osso. Tal é possível graças às suas propriedades osteocondutoras. Posteriormente, a dentina é substituída, lentamente e de forma gradual, por osso, através de um mecanismo de reabsorção por substituição, dependente do tempo (Gomes et al., 2002; Andersson, 2010; Binderman et al., 2014; Qin et al., 2014; Saeed et al., 2015).

Para além disso, a dentina constitui um agente de libertação lenta de BMPs, proteínas responsáveis pelas suas propriedades osteoindutoras (Andersson, 2010; Kim et al., 2010; Koga et al., 2016).

Desta forma, o dente constitui um material osteoindutor devido à presença de fatores de crescimento na dentina ou na polpa dentária (Miyata et al., 2011; Kim et al., 2013a).

Durante os processos de anquilose e reabsorção por substituição, não se verifica qualquer reação inflamatória no osso alveolar, o que sugere a elevada biocompatibilidade da dentina (Andersson 2010; Kim et al., 2013a)

As propriedades imunogénicas do dente relacionam-se com os seus tecidos moles, o ligamento periodontal e a polpa dentária. Após a remoção destes tecidos, a ausência de imunogenicidade associada à dentina torna possível a sua utilização como autoenxerto e aloenxerto (Andersson, 2010).

9. Métodos de Processamento da Dentina

Os métodos de processamento da dentina podem ser agrupados em quatro categorias distintas (Tabatabaei et al., 2016).

Para ser utilizada como biomaterial em regeneração óssea a dentina pode ser preparada sem sofrer grandes modificações, pode ser submetida à extração das suas proteínas não-colagénicas (NCPs), à desmineralização e à eliminação da sua matriz orgânica (Tabatabaei et al., 2016).

9.1 Extração das Proteínas Não-Colagénicas

Este método de processamento foi introduzido em 1979 por Smith e seus colaboradores. O protocolo adotado pelo autor consistia em aplicar ácido etilenodiamino

tetra-acético (EDTA) a 10%, durante 10 dias, 5 vezes por dia, a um particulado de dentina, com o objetivo de extrair as proteínas não-colagénicas. Posteriormente, o particulado era submetido, sequencialmente, a processos de centrifugação, diálise e liofilização (Tabatabaei et al., 2016).

Ao longo dos anos surgiram inúmeros protocolos que descreveram a utilização de materiais alternativos ao EDTA como ácidos, o cloreto de guanidínio, o hidróxido de cálcio e vários tipos de agregado trióxido mineral (MTA). No entanto, o EDTA é o material que permite atingir as taxas de extração proteica mais elevadas (Tabela 3) (Tabatabaei et al., 2016).

De acordo com Ravindram & Gomes (2015), apesar das proteínas não-colagénicas representarem apenas uma pequena porção dos constituintes orgânicos das matrizes extracelulares da dentina e do osso alveolar, a sua ausência impossibilita os fenómenos de formação e remodelação óssea.

Tabela 3 – Estudos do processamento da dentina através da extração de NCPs. Adaptado de Tabatabaei et al (2016).

Autor	Data da Publicação	Espécie	Protocolo	Produto Final	Método de Avaliação	Resultados
Martin-De Las Heras et al.	2000	Humana	Cloreto de Guanidínio por 4 dias + EDTA por 16 dias + Cloreto de Guanidínio por 3 dias	Liofilizado	Eletroforese, Zimografia e Western Blot	Diversidade de proteínas e identificação da forma ativa da gelatinase
Tomson et al.	2005	Humana	EDTA, hidróxido de cálcio, MTA branco e cinzento por 40 dias	Liofilizado	Eletroforese e Comparação de Compostos com Kits Específicos	Maior quantidade de extração proteica no grupo do EDTA
Graham et al.	2006	Humana	EDTA, hidróxido de cálcio por 14 dias	Liofilizado	Eletroforese e Comparação de Compostos com Kits Específicos	Maior quantidade de extração proteica no grupo do EDTA
Huang et al.	2008	Rato	HCL- Guanidíio por 15h		Cromatografia e Western Immunoblotting	Proteínas distintas nos extratos dentinário e ósseo
Kim et al.	2009	Porco	EDTA com inibidor de proteases por 14 dias		Eletroforese e Western Blot	Pureza Ótima e Diversidade de Proteínas

9.2 Desmineralização

O método de processamento da dentina através da sua desmineralização foi descrito, pela primeira vez, em 1979, por Reddi e seus colaboradores (Tabatabaei et al., 2016).

Anos mais tarde, inúmeros autores aplicaram este método à dentina humana (Tabela 4) (Tabatabaei et al., 2016).

De acordo com Kim (2015), quando um dente não é submetido a um processo de desmineralização, dificilmente consegue induzir a formação de novo tecido ósseo devido à elevada quantidade de matéria mineral, ao alto grau de mineralização e à baixa

porosidade, que o caracterizam. Segundo o autor, estes fatores intervêm nos mecanismos biológicos de migração, adesão e proliferação de células vasculares e mesenquimais. Por outro lado, o mesmo autor conclui que a desmineralização do dente e do osso alveolar aumenta a biodisponibilidade das NCPs que integram as suas matrizes, tais como a osteocalcina, a osteonectina, a sialoproteína óssea, a fosfoforina e as BMPs, potenciando, desta maneira, a formação de novo osso.

Por outro lado, Kim et al (2013a) reconhece que o processo de libertação de fatores de crescimento dentinários é, por vezes, bloqueado pela presença de cristais de hidroxiapatite.

Em concordância com Kim et al (2013a), Koga et al (2016) consideram que o processo de desmineralização da dentina permite a abertura dos seus túbulos. Como consequência, estes atuam como canais de libertação de NCPs e BMPs, potenciando o crescimento e a diferenciação de células osteoblásticas.

Em 1967, Yeomans & Uris, comprovaram que o dente exhibe propriedades osteogénicas, após ser submetido a um processo de desmineralização (Kim, 2015).

Em 1975, Nordenram, Bang & Bernhoft, utilizaram pela primeira vez a dentina desmineralizada alógena, como biomaterial, em humanos (Kim, 2015).

Em 2003, Murata apresentou o primeiro estudo de caso, sobre a utilização da dentina desmineralizada autógena em humanos, no “*81th International Association for Dental Research*”, em Gotemburgo (Kim, 2015).

As propriedades osteoindutoras e osteocondutoras da dentina alógena e autógena, foram verificadas ao longo dos anos (Kim, 2015).

As duas principais desvantagens do processamento da dentina, através da sua desmineralização, incluem o tempo necessário para a realização do procedimento e o risco de exposição prolongada da dentina aos ácidos, que é prejudicial às NCPs e, dadas as suas funções, ao processo de formação de novo osso (Kim, 2015, Ravindram & Gomes, 2015).

Tabela 4 – Estudos do processamento da dentina através da sua desmineralização. Adaptado de Tabatabaei et al (2016).

Autor	Data da Publicação	Espécie	Protocolo	Produto Final	Método de Avaliação	Resultados
Parmar et al.	2004	Humana	EDTA com diferentes concentrações e valores de pH	Dentina radicular em secções iguais	Medição da libertação de fósforo através de espectrofotómetro	Foram libertados elevados níveis de fósforo a um pH de 7,5 comparativamente ao pH de 9, e a uma concentração de 17% de EDTA comparativamente a outras concentrações
Vennat et al.	2009	Humana	Ácido Fosfórico, EDTA, Hexametildissilazano ou Liofilização	Discos	EDS, SEM, microanálise e porosimetria	Elevadas porosidades e baixa contração no grupo liofilizado
Yagihashi et al.	2009	Bovina	Desmineralização em HCL durante 1 semana, clorofórmio metanol durante 1 dia	Pó Liofilizado composto por partículas com 250 a 500µm	Eletroforese	Deteção de Proteínas Morfogénicas Ósseas (BMPs) no pó
Chun et al.	2011	Humana	10 minutos de etanol, liofilização, EDTA e HCL durante 2 semanas	Pó Liofilizado composto por partículas com 100 a 250µm	Espectroscopia de Infravermelhos e SEM	Grupo do EDTA: superfície lisa/favorável. Grupo do HCL: superfície mais rugosa /desfavorável
Kim et al.	2011	Humana	Dois grupos: dente liofilizado e dente liofilizado e parcialmente desmineralizado (“AutoBT [®] ”)	Pó Liofilizado	Difração de Raio-x (XRD), EDS e SEM	Semelhanças elevadas entre o “AutoBT [®] ” e o tecido ósseo

Autor	Data da Publicação	Espécie	Protocolo	Produto Final	Método de Avaliação	Resultados
Li et al.	2011	Humana	EDTA em diferentes concentrações	Matriz dentinária desmineralizada comparada com dentina não modificada e hidroxiapatite (HA)/fosfato tricálcico (TCP)	ELISA e SEM	Exposição dos túbulos dentinários no grupo modificado, ausência de diferenças na concentração de proteínas em ambos os grupos (modificado e não modificado), ausência de proteínas no grupo HA/TCP
Akazawa et al.	2012	Humana	10 a 60 minutos em ácido nítrico ou ácido clorídrico a diferentes temperaturas	Grânulos de matriz dentinária desmineralizada	Avaliação da bioatividade em fluido corporal simulado, Difração de Raio-x, EDS, microanálise de elétrons e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado	Eliminação dos cristais de hidroxiapatite em 60 minutos e diminuição em peso numa proporção de 1/50, deposição de grânulos de hidroxiapatite no fluido corporal simulado, diferenças morfológicas nos depósitos dependendo das concentrações dos ácidos
Kim et al.	2014	Humana	Óxido de nitrogênio, álcool etílico e éter etílico	“AutoBT®” comparado com xenoenxertos, aloenxertos e materiais aloplásticos	SEM, XRD e Testes de solubilidade em fosfato de cálcio	Textura superficial e solubilidade do “AutoBT®” semelhante à do osso autólogo e estrutura menos cristalina

9.2.1 Material de Enxerto Ósseo de Dente Autógeno

Através do processo de desmineralização é possível obter, a partir de dentes extraídos, o material de enxerto ósseo de dente autógeno ou “*Autogenous Tooth Bone Graft Material*” (AutoBT®, Korea Tooth Bank, Seoul, Korea), constituído por 55% de matéria inorgânica e 45% de matéria orgânica (Kim et al., 2013a; Park et al., 2012)

Como integra na sua composição componentes orgânicos e inorgânicos, o “AutoBT®” promove uma remodelação óssea alveolar rápida (Kim et al., 2010).

Apesar do desenvolvimento dos materiais de enxerto derivados do dente se iniciar em 1993 por Kim, o “*AutoBT*®” só foi introduzido em 2008, após inúmeros estudos experimentais, pelo *Korea Tooth Bank Co.* (Seoul, Korea) (Kim et al., 2011; Kim et al., 2013a; Young-Kyun Kim, Lee, Kyung-Wook Kim Um & Murata, 2013;).

Atualmente, o “*AutoBT*®” é amplamente utilizado em regeneração óssea, na Coreia e no Japão (Kim et al., 2013a; 2013b).

A sua utilização como biomaterial em regeneração óssea está indicada quando o paciente possui pelo menos um dente com indicação para extração (Kim et al., 2010; Hee-Yung et al., 2014).

Os componentes inorgânicos do “*AutoBT*®” incluem hidroxiapatite com um baixo grau de mineralização entre outros minerais de fosfato de cálcio tais como o fosfato tricálcico (TCP), o fosfato de cálcio amorfo (ACP) e o fosfato octocálcico (OCP). A sua constituição é, por isso, muito semelhante à do osso alveolar cortical (Tabela 4) (Kim et al., 2010; Kim et al., 2011; Kim et al., 2013a; Hee-Yung et al., 2014).

Por outro lado, os seus componentes orgânicos incluem proteínas não-colagénicas, que lhe conferem propriedades osteocondutoras e osteoindutoras (Hee-Yung et al., 2014).

Este material está disponível em duas formas distintas, bloco e pó. Ambas permitem alcançar a regeneração óssea através de osteoindução e osteocondução, possuem a capacidade de molhabilidade através do sangue e de substituição por acréscimo (Park et al., 2012).

O “*AutoBT*®” em bloco pode ser dividido em dois tipos “*root-form*”, que se assemelha a uma raiz, e “*root-on*”, que se assemelha a um bloco ósseo. O primeiro é indicado para preservação alveolar e o segundo para aumentos horizontais e verticais da crista óssea alveolar. No entanto, ambos os tipos de “*AutoBT*®” em bloco podem ser utilizados em preservação alveolar, regeneração óssea, reconstituição de perfurações na membrana de Schneider e aumento da estabilidade primária de implantes orais (Park et al., 2012).

À semelhança do “*AutoBT*®” em bloco, o “*AutoBT*®” em pó também pode ser dividido em dois tipos, neste caso, coronário ou “*AutoBT-Enamel*®” e radicular ou “*AutoBT-Dentin*®” (Park et al., 2012).

O “*AutoBT-Enamel*®” apresenta para além da dentina, esmalte na sua constituição. Desta forma, possui uma elevada quantidade de matéria inorgânica. Os seus minerais de fosfato de cálcio caracterizam-se por um elevado grau de mineralização e a proporção cálcio/fosfato é elevada. O “*AutoBT-Enamel*®” apresenta propriedades osteocondutoras e sofre uma reabsorção lenta. Desta forma, a sua utilização é adequada em situações nas

quais se pretende essencialmente manter o volume (Kim et al., 2011; Park et al., 2012; Kim et al., 2013a).

O “*AutoBT-Dentin*®” é constituído por dentina e cimento, e por isso possui uma grande quantidade de matéria orgânica, nomeadamente colagénio do tipo I. Os seus cristais de fosfato de cálcio possuem um baixo grau de mineralização e a sua proporção de cálcio/fosfato é mais baixa comparativamente ao “*AutoBT-Enamel*®”. Apresenta propriedades osteoindutoras e osteocondutoras e é indicado para aumentos da crista alveolar e regeneração óssea maxilar (Kim et al., 2011; Park et al., 2012; Kim et al., 2013a).

Para reparar defeitos ósseos de grandes dimensões o “*AutoBT*®” pode ser utilizado em associação com outros materiais de enxerto (Kim et al., 2013a).

O protocolo de obtenção do “*AutoBT*®” implica que após a extração, os dentes extraídos devam ser enviados num recipiente com álcool etílico a 75%, para o *Korea Tooth Bank*. Posteriormente, a porção coronária é separada da porção radicular, e esta última é processada em pó, constituído por partículas com um diâmetro que varia entre os 400 e os 800µm (Kim et al., 2013a).

Numa primeira fase, aplica-se água destilada a ambos os tipos de “*AutoBT*®”, com o objetivo de remover os tecidos moles remanescentes e a matéria contaminada. De seguida, o material é submetido a processos de desidratação, desengorduramento, desmineralização parcial, liofilização e esterilização com óxido de etileno, que o tornam pronto a ser empacotado (Kim et al., 2013a; Kim et al., 2014a).

Após a sua utilização como enxerto, graças às suas propriedades osteocondutoras e osteoindutoras, o “*AutoBT*®” é gradualmente reabsorvido e substituído pelo novo osso que forma uma união com o material de enxerto remanescente. A formação de osso trabecular ocorre ao fim de apenas 5 meses de cicatrização (Kim et al., 2010; Hee-Yung et al., 2014).

9.3 Eliminação da Matriz Orgânica

Este é um método pouco descrito na literatura uma vez que o papel das proteínas da matriz orgânica da dentina nos processos de migração, proliferação, adesão e diferenciação celulares é reconhecido pela maioria dos estudos (Tabatabaei et al., 2016).

Moharamzadeh et al (2008) demonstraram a excelente biocompatibilidade de um particulado de dentina bovina após desnaturação. A dentina foi fervida em água durante

2h, posteriormente submetida a isopropanol durante 2h e a um processo de secagem a 100°C (Tabatabaei et al., 2016).

Elkayar et al (2013) prepararam um particulado de dentina bovina, fervendo-o em água durante 90 minutos, calcinando-o num ambiente húmido a 735°C e posteriormente sinterizando-o a 1150°C. O autor obteve com sucesso hidroxiapatite e identificou elementos como o cálcio, o fosfato e o potássio (Tabatabaei et al., 2016).

9.4 Preparação e Aplicação da Dentina Inalterada

Contrariamente a outros autores como Kim et al (2013a) e Kim (2015), Binderman et al (2014) concluíram que a utilização da dentina desmineralizada em regeneração óssea não permite a colocação de implantes orais com uma ancoragem adequada.

Por outro lado, Kim et al (2013a) apesar de considerarem que o processo de libertação de fatores de crescimento dentinários é, por vezes, bloqueado pela presença de cristais de hidroxiapatite, reconhece que a remodelação óssea é possível na medida em que a dentina é composta por cristais de hidroxiapatite de baixo grau de mineralização.

A fase mineral da dentina constitui um fator fundamental nos processos de diferenciação celular, mineralização e manutenção de espaço necessários à formação de novo osso. Para além disso, confere propriedades biomecânicas ao tecido ósseo que se forma (Kim, 2015).

De facto, segundo Binderman et al (2014) a dentina mineralizada permite a obtenção de uma boa estabilidade mecânica que torna possível, inclusivamente, a colocação de implantes em carga precoce, isto é, dois a três meses após os procedimentos regenerativos.

Em concordância Saeed et al., (2015), referem que um particulado de dentina mineralizada possui maior resistência e a sua utilização em regeneração óssea diminui a possibilidade de fratura do osso regenerado.

Apesar de possuir propriedades osteoindutoras tardias a dentina mineralizada funde-se na perfeição com o osso recém-formado. A sua remodelação é mais lenta quando comparada à do osso cortical ou à da maioria dos materiais de enxerto o que permite, de acordo com o autor, a manutenção a longo prazo da estética e da estrutura da crista alveolar e do muco-periósteo (Binderman et al., 2014).

Por outro lado, Saeed et al., (2015) não verificaram qualquer atraso nas propriedades osteoindutoras de um particulado de dentina humana mineralizada, após a sua utilização na regeneração óssea de defeitos criados em coelhos. Neste estudo, as propriedades

osteointrodutoras da dentina mineralizada foram verificadas duas semanas após a cirurgia de regeneração óssea.

Segundo Binderman et al (2014) o particulado de dentina autógena mineralizada deve ser considerado o “*gold standard*” em preservação alveolar, regeneração de defeitos ósseos e elevação do seio maxilar.

10. Smart Dentin Grinder® (Kometabio, USA)

A “*Smart Dentin Grinder®*” é um equipamento capaz de transformar em 15-20 minutos, dentes extraídos num particulado de dentina autógena mineralizada, pronto a ser utilizado como biomaterial em regeneração óssea. O particulado obtido apresenta mais do dobro do volume do dente que lhe deu origem (Binderman et al., 2014).

A “*Smart Dentin Grinder®*” consegue triturar o dente em 3 segundos, e selecionar as partículas com o tamanho desejado (300 a 1200µm) em apenas 20 segundos, através do movimento vibratório da sua câmara de trituração. As partículas que apresentam menos de 300µm são automaticamente depositadas num compartimento próprio para os desperdícios, na medida em que o seu tamanho as torna inadequadas para utilização em regeneração óssea (Binderman et al., 2014).

O protocolo de trituração do dente e de seleção das partículas pode ser repetido quantas vezes forem necessárias até as partículas desaparecem totalmente da câmara de trituração (Binderman et al., 2014).

A eficácia deste equipamento na seleção das partículas com tamanho adequado para a regeneração é superior a 95% (Binderman et al., 2014).

O particulado de dentina autógena mineralizada é posteriormente imerso numa solução alcoólica desinfetante, o “*CLEANSER*” durante 10 minutos num recipiente esterilizado. O “*CLEANSER*” é composto por 0,5M de hidróxido de sódio (NaOH) e por 30% de álcool volume por volume (v/v). É responsável por desengordurar, remover os detritos orgânicos, as bactérias e as toxinas do particulado dentinário (Binderman et al., 2014).

De seguida, a solução alcoólica é decantada e é aplicada a solução salina tampão fosfatada estéril, a “*PBS*”. Após a decantação da “*PBS*”, o particulado húmido está pronto para ser utilizado. Caso não seja utilizado imediatamente poderá ser colocado numa placa aquecida a 140°C, durante 5 minutos, para posterior utilização (Binderman et al., 2014).

11. Evidência Científica

A revisão da literatura, efetuada no presente estudo piloto, sobre a utilização da dentina, como biomaterial, em regeneração óssea incluiu uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados *Pubmed*, *B-On*, *Wiley Online Library* e *ResearchGate*.

Na pesquisa bibliográfica incluíram-se artigos científicos em inglês, até 2016, e utilizaram-se como palavras-chave “autogenous dentin graft”, “dentin matrix”, “autogenous tooth bone graft”, “bone graft”, “bone regeneration” e “dentin in bone tissue engineering”.

Concluimos, que não existem meta-análises sobre o tema do presente estudo.

Por outro lado, a única revisão sistemática encontrada é de Tabatabaei et al (2016) e pretende comparar os diferentes métodos de processamento da dentina, prévios à sua utilização, como biomaterial, em regeneração óssea.

O único ensaio clínico randomizado e controlado, sobre o tema do presente estudo, é de Pang et al (2016) e pretende comparar os resultados clínicos e histológicos obtidos após a utilização do “*AutoBT*®” e do xenoenxerto mais utilizado atualmente, o “*Bio-Oss*®” (Geistlich AG, Wollhusen, Switzerland), na regeneração óssea pós-extração (Tabela 2).

Em 2003, Murata, desenvolveu o primeiro estudo clínico sobre a utilização da dentina autógena em regeneração óssea. O estudo de caso de Murata (2003) consistiu na utilização de um particulado de dentina autógena desmineralizada, na elevação do seio maxilar. O autor concluiu que a dentina possui propriedades osteoindutoras e que a sua utilização em regeneração óssea leva à formação de novo osso (Tabela 2).

O tema do presente estudo piloto parece ter atraído as atenções dos investigadores nos últimos 5 anos, na medida em que a grande maioria dos estudos clínicos surgiu após o ano de 2010 (Tabela 2).

No entanto, os estudos clínicos encontrados traduzem-se em séries de casos, estudos de caso, dois estudos comparativos e um estudo retrospectivo (Tabela 2).

De uma forma geral, os resultados dos estudos clínicos estão em concordância. Evidenciaram que a dentina é gradualmente reabsorvida e substituída por osso, apresenta uma boa integração tecidual, estabelece um contato direto e, conseqüentemente, uma integração do tipo fusão ou interdigitação com o osso recém-formado, possui propriedades osteocondutoras e osteoindutoras, a sua utilização como biomaterial em regeneração óssea não se relaciona com o aparecimento de complicações pós-operatórias

e quando associada à colocação de implantes orais não parece comprometer a taxa de sobrevivência e a estabilidade implantar (Tabela 2).

Alguns estudos do tipo séries de casos, apresentam, no entanto, amostras de pequenas dimensões. São exemplos os estudos de Kim et al (2010), Lee et al (2013), Chang et al (2014) e Kim et al (2015), cuja amostra é constituída por 6, 9, 10 e 5 casos clínicos, respetivamente.

Tabela 5 – Estudos clínicos sobre a utilização da dentina autógena como biomaterial em regeneração óssea

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Tipo de Estudo e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2003	Murata	Avaliar as propriedades osteocondutoras da “ <i>ADDM</i> ” num caso clínico de elevação do seio maxilar.	Estudo de Caso N=1	Particulado de dentina autógena desmineralizada (“ <i>ADDM</i> ”).	-	Formação de novo osso através de mecanismos de osteocondução.
2006	Gomes et al	Avaliar radiograficamente a utilização da “ <i>ADDM</i> ” na ROG (com membrana de PTFE) de alvéolos dentários de terceiros molares pós-extração.	Estudo Comparativo N=27	Fragmentos de dentina desmineralizada (“ <i>ADDM slices</i> ”)	Avaliação radiográfica: análise densitométrica após a cirurgia de ROG. Comparação de resultados entre um grupo de controlo, um grupo submetido à utilização de uma membrana de PTFE e um grupo submetido à utilização de “ <i>ADDM</i> ” + PTFE.	Regeneração óssea mais rápida e melhor arquitetura do osso alveolar formado no grupo “ <i>ADDM</i> ” + PTFE. As diferenças densitométricas entre os três grupos não foram estatisticamente significativas.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Tipo de Estudo e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2010	Kim et al	Avaliar clinicamente, radiograficamente e histologicamente a utilização do “AutoBT [®] ” na ROG simultânea à colocação de implantes orais	Série de Casos N=6	Dentina desmineralizada sob a forma de particulado (“AutoBT Powder [®] ”)	Avaliação radiográfica de TCs, 5 semanas após a cirurgia de ROG e colocação dos implantes orais Avaliação histológica descritiva e análise histomorfométrica 3-6 meses após a ROG e colocação dos implantes orais	Excelente remodelação óssea. Contato direto entre a dentina remanescente e o novo osso (integração do tipo fusão). Reabsorção gradual da dentina, entre 3-6 meses. Formação de novo osso através de osteocondução e osteoindução. A análise histomorfométrica revelou 46-87% de novo osso nas áreas de interesse.
2011	Kim et al	Avaliar clinicamente a utilização do “AutoBT [®] ” num caso clínico de autotransplante do terceiro molar para a região do primeiro molar.	Estudo de Caso N=1	Dentina desmineralizada sob a forma de particulado (“AutoBT Powder [®] ”).	Avaliação clínica: determinação da mobilidade dentária pós-cirúrgica. Avaliação radiográfica: análise de radiografias periapicais, durante um “follow-up” de 10 meses.	Aumento da estabilidade inicial do terceiro molar. Estabelecimento de uma nova inserção periodontal através de mecanismos de osteocondução e osteoindução.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Tipo de Estudo e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2011	Jeong et al	Avaliar clinicamente e histologicamente a utilização do “AutoBT [®] ” na elevação do seio maxilar.	Série de Casos N=27	Dentina desmineralizada sob a forma de particulado (“AutoBT Powder [®] ”).	Avaliação clínica: medição da estabilidade implantar inicial e secundária (“Osstell Mentor [®] ”); Avaliação histológica descritiva e análise histomorfométrica após a colocação de implantes ou 3-6 meses após a elevação do seio maxilar.	Boa estabilidade implantar. Formação de novo osso através de osteocondução e osteoindução. A análise histomorfométrica revelou 44-85% e 46-87% de novo osso aos 3 e 6 meses, respectivamente, nas áreas de interesse.
2012	Park et al	Avaliação retrospectiva clínica, radiográfica e histológica da utilização do “AutoBT [®] ” na regeneração óssea guiada simultânea à colocação de implantes orais, na elevação do seio maxilar, na preservação alveolar e no aumento da crista óssea alveolar.	Estudo Retrospectivo N=133	Dentina desmineralizada sob a forma de bloco e de particulado (“AutoBT Block [®] ” e “AutoBT Powder [®] ”).	Avaliação clínica: medição da estabilidade implantar inicial e secundária (“Osstell Mentor [®] ”); Avaliação radiográfica: medição da altura óssea imediatamente após a reabilitação implanto-suportada e após 6 meses através de TCs. Avaliação histológica descritiva.	Boa estabilidade implantar. A reabsorção óssea da crista alveolar mandibular variou entre 0 e 3mm. Formação de novo osso através de mecanismos de osteocondução e osteoindução, presença de osso lamelar denso, de osso trabecular e de células osteoblásticas.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Tipo de Estudo e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2013	Lee et al	Comparar e avaliar os resultados clínicos da utilização do “AutoBT [®] ” em ROG (com ou sem membrana reabsorvível) simultânea à colocação de implantes orais	Estudo Comparativo N=20	Dentina desmineraliza da sob a forma de particulado (“AutoBT Powder [®] ”)	Avaliação clínica: medição de defeitos verticais com sonda periodontal; medição da estabilidade implantar (<i>Osstell Mentor[®]</i>); cálculo da percentagem de novo osso através de medições clínicas;	Regeneração óssea significativa em defeitos verticais, independentemente da presença/ausência de membrana. As diferenças pré e pós operatórias na redução da altura do defeito ósseo, nas alterações do nível ósseo e na percentagem de novo osso entre os dois grupos não foram estatisticamente significativas.
2013	Lee et al	Avaliar clinicamente e radiograficamente a utilização do “AutoBT [®] ” na regeneração óssea horizontal e vertical	Série de Casos N=9	Dentina desmineraliza da sob a forma de bloco e de particulado (“AutoBT Block [®] ” e “AutoBT Powder [®] ”)	Avaliação clínica: medição da estabilidade implantar (<i>Osstell Mentor[®]</i>); Avaliação radiográfica: medição da reabsorção da crista óssea alveolar através de radiografias periapicais.	Taxa de sobrevivência implantar de 96%. Ausência de complicações pós-operatórias. Aumento vertical e horizontal do rebordo alveolar.
2014	Chang et al	Avaliar radiograficamente e a reabsorção óssea em locais submetidos a ROG com “AutoBT [®] ” e posteriormente à colocação de implantes orais.	Série de Casos N=10	Dentina desmineraliza da sob a forma de particulado (“AutoBT Powder [®] ”)	Avaliação radiográfica: Medição dos níveis de osso marginal após ROG, a colocação de implantes orais e a reabilitação protética	Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas na avaliação radiográfica da reabsorção óssea após a ROG, a colocação de implantes de orais e a reabilitação protética.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Tipo de Estudo e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2015	Kim, Eun-Seok	Avaliar clinicamente, radiograficamente e histologicamente a utilização do “AutoFDT®” na regeneração alveolar pós-extração e simultânea ou anterior à colocação de implantes orais.	Série de Casos N= 38	Dentina desmineralizada sob a forma de blocos, fragmentos e particulado (“Auto-FDT® Block, Chips & Powder”)	Avaliação clínica: Medição da estabilidade implantar (<i>Osstell Mentor®</i>); Avaliação radiográfica: “CBCT” 6 meses após a colocação de implantes e 12 meses após a entrega da prótese implanto-suportada; Avaliação histológica descritiva 3-6 meses após a cirurgia de regeneração óssea. Avaliação “in—vitro” do “Auto-FDT®” e “EDS” e “SEM”	Cicatrização favorável, complicações pós-operatórias mínimas. Bom suporte ósseo para colocação de implantes orais. Taxa de sucesso implantar de 100%, aos 12 meses de “follow-up”. Formação de novo osso. Contacto direto entre a dentina remanescente e o novo osso (integração do tipo fusão).
2015	Kim et al	Avaliar clinicamente, radiograficamente e histologicamente a utilização do “AutoBT®” na regeneração óssea guiada simultânea à colocação de implantes orais	Série de Casos N=5	Dentina desmineralizada sob a forma de particulado (“AutoBT Powder®”)	Avaliação radiográfica: “CBCT” pré-operatório, imediatamente após a primeira cirurgia, após a colocação da prótese implanto-suportada final e 5 anos após a primeira cirurgia. Avaliação histológica descritiva 3-6 meses após a cirurgia de regeneração óssea.	O osso cortical e esponjoso que se formou manteve-se durante 6 anos e 7 meses. A avaliação histológica revelou fenómenos de osteoindução na superfície das partículas de dentina e de osteocondução entre partículas de dentina. Formação de novo osso, 5 meses após a cirurgia de regeneração óssea.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Tipo de Estudo e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2016	Pang et al	Avaliar clinicamente e histologicamente a utilização do “AutoBT [®] ” comparativamente e à utilização do Bio-Oss na regeneração óssea pós-extração	Ensaio Clínico Randomizado e Controlado N=24 (33)	Dentina desmineralizada sob a forma de particulado (“AutoBT Powder [®] ”)	Avaliação clínica: medição da dimensão vertical do enxerto após a cirurgia de regeneração óssea e após a colocação de implantes orais; medição da estabilidade implantar (“Osstell Mentor [®] ”); Avaliação histológica descritiva e análise histomorfométrica.	Não foram registadas complicações pós-operatórias. Aumento da dimensão vertical em $5,38 \pm 2,65\text{mm}$ no grupo do “AutoBT” e $6,56 \pm 3,54\text{mm}$ no grupo do “Bio-Oss [®] ”. Estabilidade implantar de $72,80 \pm 10,81$ ISQ no grupo do “AutoBT [®] ” e $70,00 \pm 12,86$ “ISQ”. Contacto direto entre a dentina e o novo osso (integração do tipo fusão) Análise histomorfométrica revelou uma percentagem de novo osso de $31,24 \pm 13,87\%$ para o grupo do “AutoBT [®] ” e de $35 \pm 19,33\%$ para o grupo do “Bio-Oss [®] ”.

De uma maneira geral, os estudos “*in vitro*” e “*in vivo*” em animais, também demonstraram o potencial de utilização da dentina, como biomaterial, em regeneração óssea (Tabela 3)

Gomes et al (2002), Moharamzadeh et al (2008), Yagishashi et al (2009), Murata et al (2010), Murata et al (2012), Bormann et al (2012), Atiya et al. (2012), Reis-Filho et al (2012), De Oliveira et al (2013), Qin et al (2014), Saeed et al (2015) e Koga et al (2016)

utilizaram diferentes formas de dentina, heterógena ou autógena, sob a forma de particulado, fragmentos ou bloco, mineralizada ou desmineralizada e concluíram que a dentina leva à formação de novo osso (Tabela 3)

Gomes et al (2002), Moharamzadeh et al (2008), Bormann et al (2012), De Oliveira (2013), Qin et al (2014) e Saeed et al (2015) verificaram a capacidade de osteointegração da dentina, isto é, a sua integração tecidual perfeita com o osso (Tabela 3).

O estudo de Gomes et al (2002) concluiu, ainda, que a utilização da dentina desmineralizada autógena, promove a regeneração óssea, de forma mais rápida em comparação com a ausência de colocação de qualquer material de enxerto (Tabela 3).

Por outro lado, Saeed et al (2015) obtiveram resultados semelhantes aos de Gomes et al (2002), mas após a utilização da dentina mineralizada humana na regeneração óssea de defeitos criados em coelhos. De facto, a formação de novo osso ocorreu de forma mais rápida no grupo teste, no qual se utilizou um particulado de dentina mineralizada, comparativamente ao grupo controlo, no qual não se utilizou qualquer material de enxerto (Tabela 3).

De acordo com Gomes et al (2002), Qin et al (2014) e Saeed et al (2015) a dentina sofre uma reabsorção gradual à medida que é substituída por novo osso (Tabela 3).

De Oliveira et al (2013) observaram a formação ativa de novo osso e concluíram que a dentina desmineralizada humana induz a diferenciação de células osteoblásticas (Tabela 3)

Por outro lado, Bormann et al (2012), Reis-Filho et al (2012) e Qin et al (2014) observaram fenómenos de neovascularização (Tabela 3)

Gomes et al (2002) concluíram que a dentina possui propriedades osteocondutoras, enquanto Murata et al (2010) e Saeed et al (2015) verificaram as propriedades osteoindutoras dentinárias. Por outro lado, Atiya et al. (2012) referem no seu estudo que a dentina leva à formação de novo osso por mecanismos de osteocondução e osteoindução (Tabela 3).

A excelente biocompatibilidade da dentina foi verificada “*in vitro*” por Moharamzadeh et al (2008) e “*in vivo*” por Saeed et al (2015) (Tabela 3).

Por outro lado, o estudo de Koga et al (2016) concluiu que as percentagens de novo osso, verificadas após uma análise histomorfométrica, foram mais elevadas, 4 e 8 semanas após a utilização de um particulado de dentina humana parcialmente desmineralizada na regeneração óssea de defeitos criados em ratos (10,4%, 11,1%, 26,0%, quatro semanas após a utilização de partículas com 200µm, 500µm e 1000µm, respetivamente; 28,3%,

22,3% e 33,2%, oito semanas após a utilização de partículas com 200µm, 500µm e 1000µm, respectivamente), comparativamente à utilização de particulados de dentina humana mineralizada (1,9%, 2,7% e 5,6%, quatro semanas após a utilização de partículas com 200µm, 500µm e 1000µm, respectivamente; 3,1%, 5,0%, 8,2%, oito semanas após a utilização de partículas com 200µm, 500µm e 1000µm, respectivamente) e completamente desmineralizada (4,1%, 2,1% e 11,6%, quatro semanas após a utilização de partículas com 200µm, 500µm e 1000µm, respectivamente; 7,2%, 4,3% e 33,0%, oito semanas após a utilização de partículas com 200µm, 500µm e 1000µm, respectivamente).

Koga et al (2016) sugere que a dentina completamente desmineralizada é reabsorção mais rapidamente em comparação com a formação de novo osso por mecanismos de osteocondução e osteoindução, o que permite explicar as menores percentagens de novo osso comparativamente às que se obtiveram após a utilização da dentina parcialmente desmineralizada.

Relativamente ao tamanho das partículas, Koga et al (2016), referem melhores resultados após a utilização de partículas com um tamanho entre 800-1200µm, independentemente do grau de mineralização da dentina, comparativamente aos resultados obtidos após a utilização de partículas com um tamanho entre 180 e 600µm.

No entanto, não existe um consenso sobre o tamanho ideal das partículas que constituem os enxertos ósseos, e por isso, são necessários mais estudos para avaliar a influência deste fator no sucesso clínico da regeneração óssea (Koga et al., 2016).

Tabela 6 – Estudos *in vitro* e *in vivo* sobre a utilização da dentina como biomaterial em regeneração óssea.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Espécie e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2002	Gomes et al	Avaliar as propriedades osteocondutoras da matriz dentinária desmineralizada autóloga (“A”DDM”) na ROG (com membrana de “PTFE”) de defeitos ósseos criados em coelhos	Coelhos N=24	Dentina desmineralizada autóloga sob a forma de fragmentos (“A”DDM” slices”)	Avaliação radiográfica 15, 30, 60 e 90 dias após a cirurgia de regeneração óssea. Avaliação histológica descritiva e análise histomorfométrica. Comparação de resultados entre o grupo teste e o grupo controlo.	A regeneração óssea foi mais rápida no grupo teste. Reabsorção gradual da dentina com substituição por novo osso. Formação de novo osso por mecanismos de osteocondução. Integração tecidual perfeita entre a dentina e o novo osso.
2008	Moharamza deh et al.	Avaliar o potencial de utilização de diferentes formas de dentina, com origem bovina, como biomaterial na regeneração óssea de defeitos ósseos criados em ratos	Ratos N=6	Dentina mineralizada sob a forma de particulado	Testes “ <i>in vitro</i> ” e “ <i>in vivo</i> ” de avaliação da biocompatibilidade da dentina	Excelente biocompatibilidade “ <i>in vitro</i> ”. Formação de novo osso. Integração tecidual perfeita entre a dentina e o novo osso.
2009	Yagishashi et al	Avaliar o potencial de utilização da DDM origem bovina na regeneração óssea de defeitos cartilagíneos articulares de coelhos.	Coelhos N=22	Dentina desmineralizada sob a forma de particulado (“DDM”), com origem bovina	Avaliação radiográfica Avaliação histológica dos parâmetros morfologia celular, coloração da matriz, regularidade da superfície, espessura de cartilagem e integração tecidual.	A “DDM” promove uma regeneração osteocondral. Formação ativa de novo osso, numa fase precoce do período pós-operatório.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Espécie e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2010	Murata et al	Avaliar a eficácia da dentina humana totalmente desmineralizada (“DDM”) e “DRD”) no transporte da BMP-2.	Ratos	Dentina desmineralizada sob a forma de particulado (“DDM”) e dentina radicular desmineralizada sob a forma de bloco (DRD).	Avaliação histológica descritiva, análise histo- morfológica.	A matriz dentinária desmineralizada (“DDM”) e a dentina radicular desmineralizada (DRD) constituem materiais ricos em colagénio, passíveis de aplicação em regeneração óssea, com propriedades osteoindutoras e capazes de transportar a BMP-2. Diferenciação de osteoblastos na superfície da dentina no grupo teste (“DDM”+BMP-2). A BMP-2 dentinária acelera a formação de novo osso.
2012	Murata et al	Avaliar o aumento das propriedades osteoindutoras da matriz dentinária desmineralizada humana, após a adição da BMP-2.	Ratos	Dentina desmineralizada humana sob a forma de particulado (“DDM”).	Bioassay Avaliação histológica e análise morfológica Análise bioquímica do particulado.	A matriz dentinária desmineralizada (“DDM”) é um transportador eficaz da BMP-2. A adição deste fator de crescimento torna a dentina num enxerto com características superiores.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Espécie e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2012	Bormann et al	Avaliar as respostas ósseas, angiogénicas e inflamatórias iniciais, bem como a osteointegração de enxertos de dentina autógena e de β -TCP em defeitos ósseos criados em ratos.	Ratos N=24	Fragmentos de dentina desmineralizada autógena (A "DDM slices")	Observação através de microscopia de fluorescência Análise de parâmetros microvasculares Comparação de resultados entre um grupo submetido A "DDM", um grupo submetido a β -TCP e um grupo submetido a osso isogénico	Neovascularização e osteointegração da dentina. Respostas inflamatórias e angiogénicas semelhantes entre os três grupos.
2012	Atiya et al.	Avaliar histologicamente a eficácia de diferentes formas de dentina tratada com nitrogénio líquido na regeneração óssea de defeitos ósseos criados em coelhos.	Coelhos N=16	Dentina autógena tratada com nitrogénio líquido, sob a forma de particulado.	Avaliação histológica e análise histomorfométrica. Comparação de resultados entre um grupo submetido a dentina tratada com nitrogénio líquido, um grupo submetido a enxerto de osso autólogo e a um grupo não submetido a qualquer tipo de enxerto (controlo negativo).	A aceleração do processo de regeneração óssea, após a utilização da dentina tratada com nitrogénio líquido, é semelhante à verificada após a utilização de um enxerto de osso autólogo. A dentina possuiu propriedades osteocondutoras e osteoindutoras.
2012	Reis-Filho et al.	Investigar a possibilidade de utilização da dentina desmineralizada humana como biomaterial e avaliar a expressão do VEGF induzida pela dentina.	Ratos N=32	Dentina desmineralizada humana sob a forma de particulado ("DDM").	Avaliação histológica descritiva. Análise morfométrica. Análise imunohistoquímica.	Aceleração da cicatrização óssea, porque a dentina estimula a deposição de novo osso bem como fenómenos de neovascularização. Aumento da expressão do VEGF, após a regeneração óssea com dentina.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Espécie e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2013	de Oliveira et al.	Avaliar histologicamente e imuno-histoquimicamente a localização temporal da BMP-2 e da BMP-4 em osteoblastos de alvéolos dentários de ratos preenchidos com matriz dentinária desmineralizada humana	Ratos N=16	Dentina desmineralizada humana sob a forma de fragmentos (“DDM” slices)	Avaliação histológica descritiva. Análise morfométrica. Análise imunohistoquímica. Análise histoquantitativa.	Aumento do número de osteoblastos com expressão positiva da BMP-2 e da BMP-4, 10 dias após a aplicação da dentina no alvéolo. A dentina desmineralizada humana promove a diferenciação de células osteoblásticas. Formação ativa de novo osso. A dentina é incorporada no novo osso.
2014	Qin et al.	Avaliar clinicamente, radiograficamente e histologicamente a utilização da dentina autógena na regeneração de defeitos ósseos criados em coelhos.	Coelhos N=6	Dentina mineralizada autógena sob a forma de bloco	Avaliação clínica Avaliação radiográfica Avaliação histológica descritiva	Seis meses após a cirurgia de regeneração óssea, o enxerto foi totalmente coberto por novo osso. Contacto direto entre a dentina e o novo osso (anquiose). Vascularização em torno da dentina remanescente. Atividade osteoblástica. Remodelação óssea ativa. Reabsorção gradual do enxerto e substituição por novo osso.

Data da Publicação	Autor	Objetivos	Espécie e Amostra	Produto Final	Métodos de Avaliação	Resultados
2015	Saeed et al	Avaliar a biocompatibilidade e aceleração da cicatrização e maturação óssea após a utilização da dentina mineralizada humana em defeitos ósseos criados em coelhos.	Coelhos N=20	Dentina mineralizada humana sob a forma de particulado	Avaliação histológica descritiva	Boa biocompatibilidade, propriedades osteoindutoras: a dentina mineralizada induz o crescimento de células ósseas em torno das suas partículas. Forma-se novo osso em contacto direto com a dentina. A dentina mineralizada possui maior resistência e reduz a possibilidade de fratura do osso regenerado. Reabsorção gradual por substituição.
2016	Koga et al	Avaliar a influência do tamanho das partículas e do grau de mineralização da matriz dentinária humana após a sua utilização na regeneração óssea de defeitos criados em ratos.	Ratos N=100	Dentina humana mineralizada (UDD), parcialmente desmineralizada (PDDM) e totalmente desmineralizada (CDDM) sob a forma de particulado.	Avaliação radiográfica: micro-CT. Avaliação histomorfométrica. Avaliação imuno-histoquímica. Microscopia Eléctronica.	Maior reabsorção na CDDM. A dentina, nos três graus de mineralização, induziu a formação de novo osso. Maior quantidade de novo osso após a utilização da PDDM, (1000µm). Osteoblastos aderidos à matriz dentinária desmineralizada. Ausência de adesão dos osteoblastos à UDD.

II. OBJETIVOS

O presente estudo piloto prospectivo tem como objetivos avaliar clínica, radiográfica e histologicamente a utilização de um particulado de dentina autógena mineralizada em 15 casos de regeneração óssea e posterior colocação de implantes orais.

1. Hipóteses de Estudo

Hipótese Nula: Após a utilização de um particulado de dentina autógena há formação de osso denso que permite a colocação de implantes orais.

Hipótese Alternativa: Após a utilização de um particulado de dentina autógena não há formação de osso denso que permite a colocação de implantes orais.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Critérios de Inclusão

- Pacientes de qualquer sexo e raça com mais de 18 (dezoito) anos de idade.
- Pacientes que tenham já tomado a decisão de se submeter a cirurgia de regeneração óssea com o objetivo de permitir a colocação de implantes dentários e que tenham simultaneamente a indicação de uma extração dentária.
- Os motivos da extração dos dentes autólogos incluem os motivos periodontais, ortodônticos, terceiros molares e dentes total ou parcialmente impactados (serão excluídos dentes endodonciados).
- Os pacientes devem ser fisicamente capazes de tolerar procedimentos cirúrgicos e restauradores convencionais.
- Os pacientes devem concordar em comparecer às consultas de controlo das variáveis analisadas.

2. Critérios de Exclusão

- Os pacientes com infeção ativa ou inflamação severa nas áreas onde se planeia a colocação dos implantes.
- Fumadores de mais de 20 cigarros por dia.
- Pacientes com Diabetes *mellitus* não controlada ou periodontite não tratada.
- Pacientes que tenham sido alvo de terapia de irradiação na cabeça nos 12 meses prévios ao início do estudo.
- Pacientes grávidas.
- Pacientes com hábitos parafuncionais severos como por exemplo bruxismo.
- Pacientes em tratamento com bifosfonatos.

Este estudo foi conduzido de acordo com as diretivas da Boa Prática Clínica e da Declaração de Helsínquia.

Foi obtida a aprovação da Comissão de Ética da instituição (ISCSEM) para a realização do estudo na Clínica Dentária Egas Moniz e na Clínica Dentária Dr. Alexandre Santos (Anexo 1 e 2). Foi entregue a todos os pacientes um consentimento informado escrito que foi assinado pelo paciente antes do início do estudo (Anexo 3).

3. Cronograma do Estudo

Consulta 1: Dia 0 - Avaliação inicial pré-cirúrgica

Numa primeira fase os pacientes foram observados para avaliação clínica e radiográfica. Posteriormente, recolheu-se toda a informação da história médica clínica relevante para o estudo. Foi assinado um consentimento informado pelo paciente de forma a poder ser incluído no estudo. Realizaram-se radiografias iniciais, periapical e ortopantomografia (Anexo 4), pré-cirúrgicas. E por último, após a aplicação dos respetivos critérios de inclusão e exclusão, foi atribuído a cada paciente um código que foi registado numa tabela própria do estudo (Formulário próprio A.).

Consulta 2: Dia 1 - Cirurgia de extração, preparação do dente autólogo e regeneração óssea da loca cirúrgica

A cirurgia de extração (Anexos 5 e 6) foi efetuada com recurso a anestesia local articaína a 4% com adrenalina numa proporção de 1:100000.

Após a extração o dente é preparado, de acordo com o protocolo descrito no ponto 4.

Posteriormente, foi efetuada a regeneração óssea da loca cirúrgica através da utilização do particulado de dentina autógena mineralizada obtido (Anexo 7).

Material necessário nesta consulta:

- Brocas esféricas de carbide de tungsténio
- Cureta cirúrgica
- *Smart Dentin Grinder*® (Kometabio, USA) (Anexo 8)
- Solução básica alcoólica composta por 0,5M de NaOH e 30% de álcool (v/v) (*CLEANSER*)
- Solução salina tampão fosfatada estéril (*PBS*)
- Dentes autólogos
- Cápsulas de trituração esterilizadas
- Pipetas
- Godés esterilizados

Após a colocação do material de enxerto de dentina autógena foi colocada uma membrana de colagénio reabsorvível (*Bio-Guide*®, Geistlich) (Anexo 9).

Devido à dificuldade de encerramento primário do defeito e para não existir muita tensão no retalho aquando da sutura é efetuada a recolha de um enxerto gengival livre do palato de forma a promover um bom selamento da zona.

Todos os pacientes que solicitaram uma solução protodôntica provisória, para o espaço edêntulo, realizaram próteses fixas adesivas nos dentes adjacentes (Anexos 10 e 11) confeccionadas de forma a permitir a ausência total de compressão da zona regenerada. Nesse sentido, a colocação de próteses removíveis foi totalmente desaconselhada.

Consulta 3: Dia 2 - Realização de CBCT na localização previamente regenerada (6 meses após o dia da cirurgia de regeneração – Consulta 2) (Anexos 12, 13 e 14)

O estudo das tomografias foi feito com base na escala de Unidades de *Hounsfield* e (Tabela 7) preencheu-se o formulário próprio B.

Escala das Unidades de Hounsfield	
Osso D1	> 1250
Osso D2	750-1250
Osso D3	375-750
Osso D4	< 375

Tabela 7 – Escala das unidades de *Hounsfield* (Adaptado de Gulsahi, 2011)

Consulta 4: Dia 3 - Cirurgia de colocação do(s) implante(s) e recolha do fragmento ósseo.

Em todos os pacientes do estudo foi realizado o procedimento cirúrgico de colocação do(s) implante(s) (Anexo 15). Antes da colocação do implante no leito ósseo foi recolhido um fragmento ósseo para análise histológica através da utilização de uma broca trefina (#1749-023, Schwert, Germany) de 2,3mm de diâmetro interno, 2,35mm de diâmetro externo e 7mm de comprimento (Anexos 16, 17, 18 e 19).

Todas as cirurgias foram executadas por um máximo de dois cirurgiões, sem conhecimento do procedimento prévio efetuado nesses pacientes nem do tipo de material de regeneração óssea utilizado.

Aquando da cirurgia de colocação do implante foi registado, no formulário próprio C, o tipo de osso encontrado, bem como a adaptação osso-implante (estabilidade primária obtida).

Após a obtenção do fragmento ósseo com a broca trefina (#1749-023, Schwert, Germany), o mesmo foi colocado num recipiente esterilizado com uma solução neutra tamponada de formol a 10%, para posterior avaliação histológica.

4. Protocolo Experimental

A. Preparar o dente imediatamente após a sua extração

1. Remover com cureta cirúrgica todos os remanescentes de ligamento periodontal e de gengiva aderida.
2. Remover com broca esférica de carbide de tungsténio a alta rotação, todas as restaurações, coroas, lesões de cárie, tártaro e zonas de dentina descolorada (Anexos 20 e 21).
3. Secar o dente com a seringa de ar.

B. Preparar o equipamento *Smart Dentin Grinder*[®] (Kometabio, USA)

1. Colocar a câmara de trituração esterilizada mono-uso no equipamento *Smart Dentin Grinder*[®].
2. Alinhar a seta da câmara de trituração com a seta do centro do equipamento.
3. Girar a câmara de trituração para a direita, de forma a travá-la na posição.
4. Ligar o equipamento.

C. Trituração do dente

1. Colocar o dente na câmara de trituração, junto às lâminas (Anexos 22 e 23).
2. Fechar a tampa da câmara e rodá-la no sentido anti-horário de forma a travá-la na posição.

D. Configurar o tempo de trituração do dente e de seleção das partículas

1. Pressionar o botão de trituração do particulado “*GRIND*”.
2. Pressionar o botão “*UP*” até definir o tempo de trituração do particulado para 3 segundos.
3. Pressionar o botão de separação do particulado “*SORT*”.

4. Pressionar o botão “UP” até definir o tempo de separação do particulado para 20 segundos.

E. Iniciar o ciclo de trituração do dente e seleção das partículas

1. Pressionar o botão iniciar “START”.
2. Se ficarem partículas de grandes dimensões na câmara de trituração, pressionar novamente o botão “START” para submeter o particulado a mais um ciclo de trituração de 3 segundos e de separação de 20 segundos, até já não existirem partículas na câmara de trituração.

F. Recolher o particulado de dentina autógena

1. Abrir, puxando para fora o compartimento superior, onde ficam depositadas as partículas resultantes do processo, que apresentam entre 300 e 1200 µm (Anexos 24, 25 e 26).
2. Recolher o particulado.

G. Protocolo de desinfecção do particulado

1. Colocar o particulado num godé esterilizado (Anexo 27).
2. Colocar a solução básica alcoólica “CLEANSER” sobre o particulado para o desgordurar e dissolver todos os detritos orgânicos, bactérias e toxinas.
3. Fechar a tampa do recipiente, rodando-a no sentido horário.
4. Deixar a solução básica alcoólica “CLEANSER” atuar sobre o particulado durante 7 minutos, deixando o recipiente à temperatura ambiente.
5. Absorver a solução básica alcoólica “CLEANSER” com uma pipeta esterilizada.
6. Colocar a solução salina tampão fosfatada estéril “PBS” sobre o particulado até encher metade do recipiente (Anexo 28). De seguida, agitar o recipiente gentilmente e deixar atuar a solução salina tampão fosfata estéril “PBS” durante 2-3 minutos.
7. Remover a solução salina com uma gaze esterilizada.
8. O particulado está pronto a ser utilizado (Anexo 29).

5. Protocolo Laboratorial de Processamento Histológico

Fixação da amostra

1. Imediatamente após a recolha do fragmento ósseo com a broca trefina (#1749-023, Schwert, Germany) e de modo a prevenir fenómenos de autólise, putrefação e necrose, as amostras foram colocadas num recipiente contendo uma solução neutra tamponada de formol a 10%, numa proporção mínima de 1:10 (o volume da solução deve ser no mínimo 10 vezes superior ao volume da amostra).
2. As amostras são retiradas dos respectivos recipientes após 24 horas.

Descalcificação

1. Cada uma das amostras é colocada num recipiente contendo o descalcificante (“DC3 QPATH”), numa proporção de 1:20, (o volume da solução deve ser 20 vezes superior ao volume da amostra).
2. São realizadas quatro radiovisiografias (RVGs) ao fim de 15, 20, 25 e 30 minutos de descalcificação, com o objetivo de monitorizar o processo e determinar o seu fim. A diminuição do cálcio da amostra é acompanhada por uma redução da sua radiopacidade (Figura 1). Por outro lado, 30 minutos corresponde ao tempo médio de descalcificação das biópsias ósseas, analisadas no Hospital de Santa Maria, em Lisboa. Por esse motivo, foram realizadas radiovisiografias próximas dos 30 minutos de descalcificação, aos 15, 20 e 25 minutos, respetivamente. Apesar de se ter verificado a presença de uma ligeira radiopacidade central aos 30 minutos (Figura 1-D), este tempo não foi ultrapassado de forma a evitar uma sobre-descalcificação da amostra.
3. Após a descalcificação, as amostras são lavadas em água corrente durante 30 minutos.

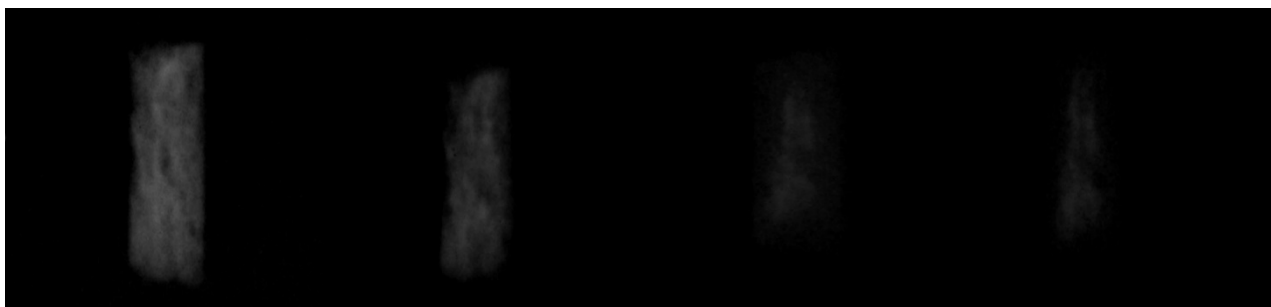


Figura 1 – Método radiográfico de monitorização do processo de descalcificação; A: RVG após 15 minutos de descalcificação; B: RVG após 20 minutos de descalcificação; C: RVG após 25 minutos de descalcificação; D: RVG após 30 minutos de descalcificação; Nesta figura é visível uma diminuição da radiopacidade do fragmento ósseo, como consequência da diminuição da quantidade de cálcio presente na amostra.

Desidratação, Diafanização e Impregnação em Parafina

As amostras são colocadas num processador histológico automático (Anexo 30):

- 1.1. Numa primeira fase são imersas novamente em formol a 10% durante 1 hora.
- 1.2. Posteriormente são imersas em recipientes com etanol a gradientes crescentes, 70%, 95% e 100%, respetivamente. O processador utilizado é composto por um recipiente de formol a 10%, dois de etanol a 70%, dois de etanol a 95% e três de etanol a 100%. Os fragmentos ósseos recolhidos permanecem 1 hora em cada um destes recipientes, perfazendo um total de 8 horas para o processo de desidratação.
- 1.3. De seguida, são imersas em dois recipientes com xilol, permanecendo 1 hora em cada, perfazendo um total de 2 horas para o processo de diafanização.
- 1.4. Por fim, são imersas em recipientes com parafina, permanecendo 2 horas no primeiro recipiente, e pelo menos 2 horas no segundo recipiente, podendo ser retirada após este período, perfazendo um total de pelo menos 4h para o processo de infiltração e impregnação em parafina.

Inclusão

1. As amostras são incluídas em moldes adequados à sua dimensão, preenchidos com parafina líquida a 65°C que se solidifica no congelador a 4°C ao longo de 15 minutos (Anexo 31).

2. Desenformam-se as amostras (Anexos 32 e 33).

Microtomia

3. Posteriormente, são efetuados cortes nos blocos com 3,5µm de espessura através da utilização de um micrótomo de “*Minot*” (Anexo 34).
4. Após a secção das amostras, estas são colocadas em lâminas de vidro carregadas electrostaticamente com cargas positivas.
5. As lâminas são colocadas na estufa a 70° durante 24h para adesão.

Coloração das Amostras

1. As amostras são coradas através da utilização do protocolo “*standard*” para hematoxilina-eosina (Anexo 35). Este consiste numa desparafinização em xilol durante 10 minutos, seguida de uma hidratação em álcoois decrescentes até à água destilada, corando-se os núcleos com hematoxilina ao longo de 12 minutos, diferenciando-se em álcool clorídrico a 0,5%, azulando em água corrente, contrastando-se com eosina e desidratando-se as lâminas até ao xilol. Estas últimas são montadas em resina sintética “*entellan*®” (107960, Merck Milipore, USA & Canada) e cobertas com lamelas de vidro.

IV. RESULTADOS

1. Caracterização da Amostra

Género do Paciente

A amostra do presente estudo piloto foi constituída por dez indivíduos, três do sexo masculino (30%, n=3) e sete do sexo feminino (70%, n=7) (Figura 2).

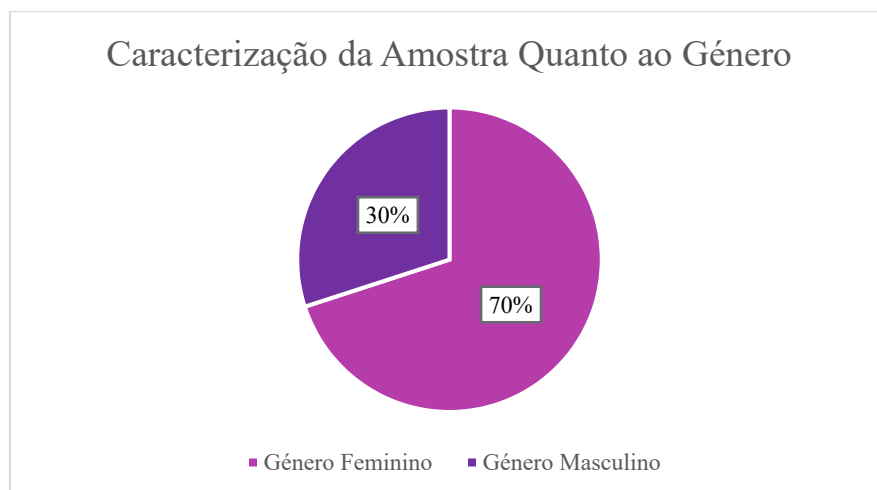


Figura 2 – Gráfico: caracterização da amostra quanto ao género.

Idade do Paciente

O presente estudo piloto foi realizado em dez indivíduos com idades compreendidas entre os 32 e os 80 anos de idade. A média das idades é 47,5 e o desvio padrão 15,5 (Figura 3).

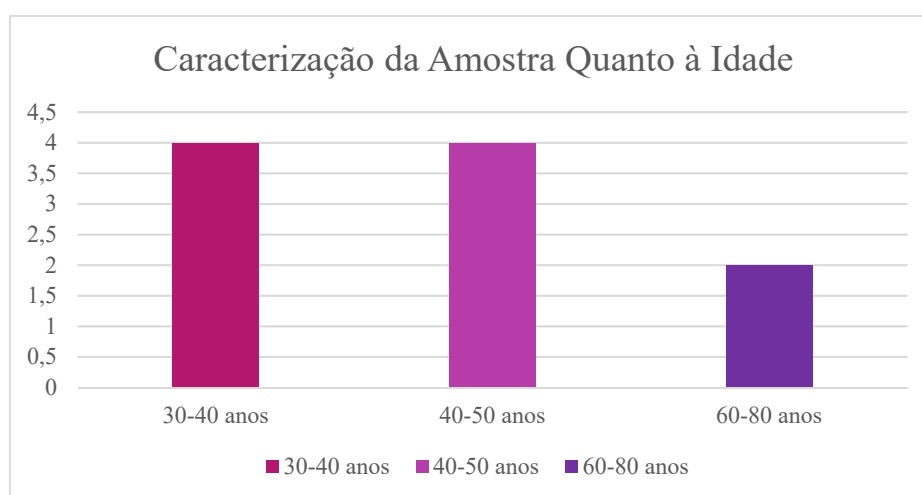


Figura 3 – Gráfico: caracterização da amostra quanto à idade.

Posição na Arcada do Dente Extraído

Foram utilizados 10 dentes, provenientes de 10 pacientes diferentes. Os dentes extraídos foram, em maioria, incisivos centrais e laterais superiores (80%, n=8), enquanto os restantes incluíram um terceiro molar (10%, n=1) e um incisivo central inferior (10%, n=1) (Figura 4).

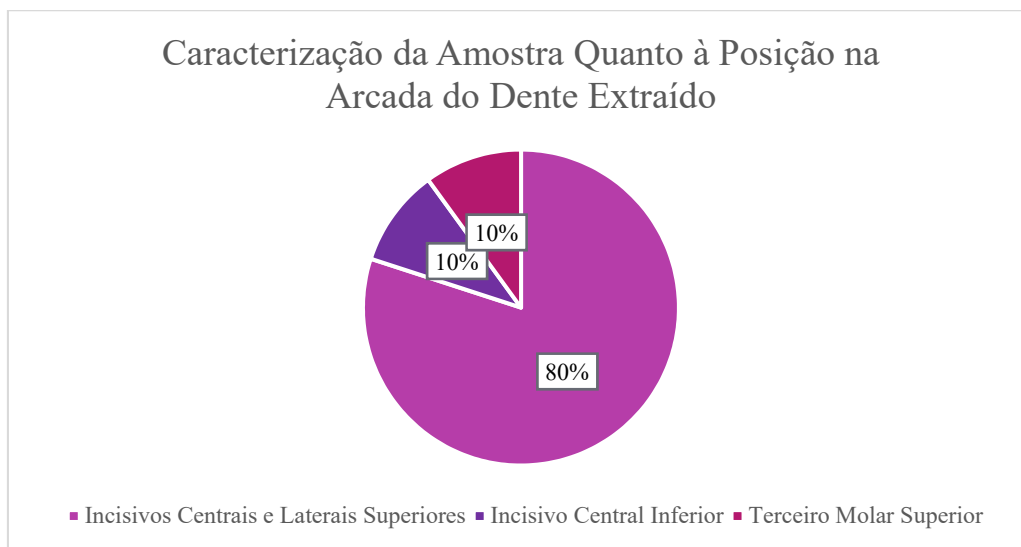


Figura 4 – Gráfico: caracterização da amostra quanto à posição na arcada do dente extraído.

Motivo da Extração

Os dentes utilizados foram extraídos, em grande maioria, por motivos periodontais (90%, n=9), sendo os restantes terceiros molares sem oclusão (10%, n=1) (Figura 5).

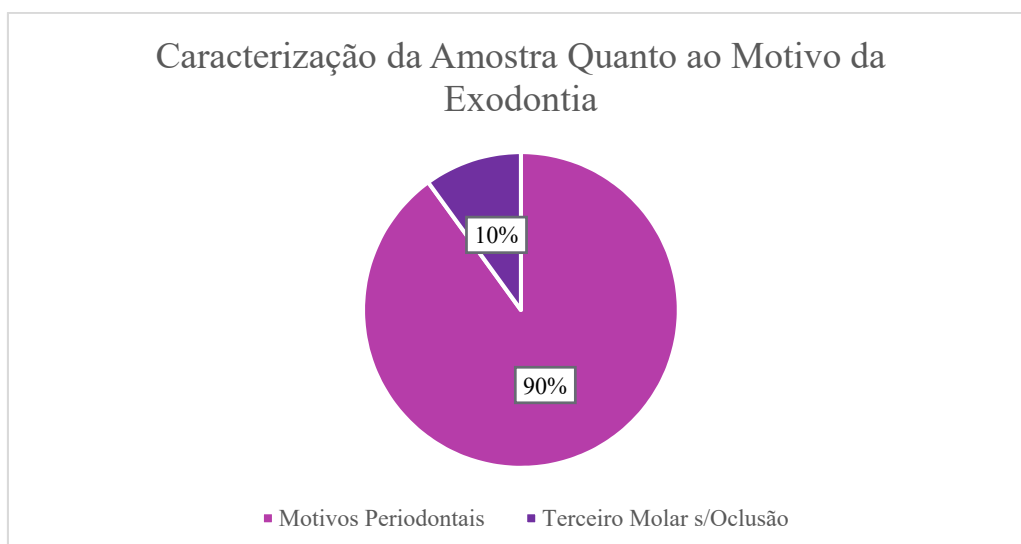


Figura 5 – Gráfico: caracterização da amostra quanto ao motivo da extração.

Posição na Arcada do Defeito Ósseo

No presente estudo piloto, foram regenerados 10 defeitos ósseos, localizados maioritariamente na região anterior da maxila (80%, n=8), enquanto os restantes se localizavam na região anterior da mandíbula (10%, n=1) e posterior da maxila (10%, n=1) (Figura 6).

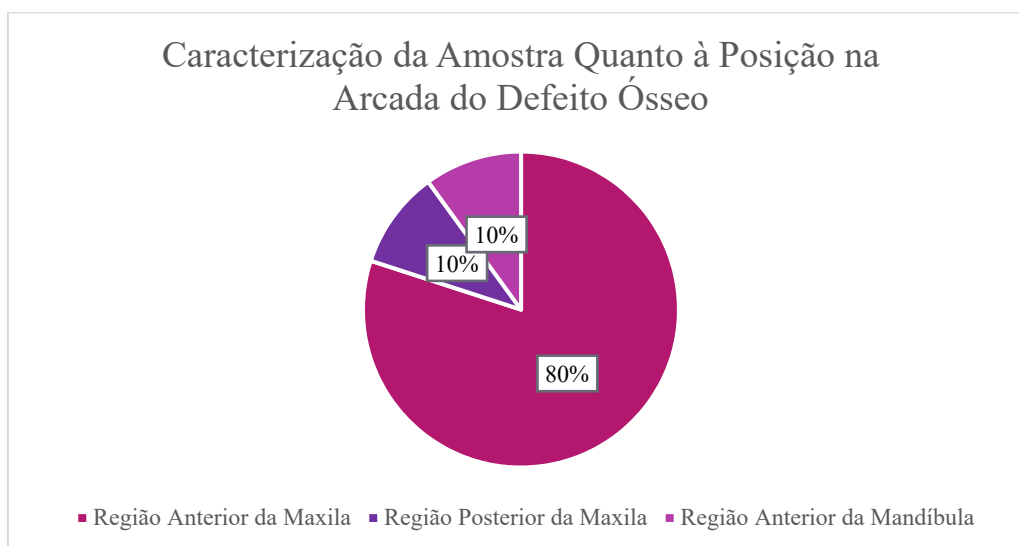


Figura 6 – Gráfico: caracterização da amostra quanto à posição na arcada do defeito ósseo.

2. Avaliação Clínica

Não se verificaram complicações pós-operatórias e a cicatrização foi favorável (Anexo 36). Aquando da colocação dos implantes orais verificou-se a existência de uma boa adaptação osso-implante e, consequentemente, de uma boa estabilidade primária implantar.

3. Avaliação Radiográfica

Seis meses após a cirurgia de regeneração óssea, todos os pacientes realizaram uma tomografia computadorizada de feixe cónico (CBCT). De acordo com Razi, Niknami & Ghazani (2014) existe uma forte correlação entre a escala de cinzentos da CBCT (valor “voxel”) e as unidades de Hounsfield. Desta forma, a avaliação radiográfica das tomografias revelou uma maior concentração de osso do tipo D2 (750-1250 unidades de “Hounsfield”) seguida de osso do tipo D3 (375-750 unidades de “Hounsfield”), ambos com uma densidade significativamente maior, em comparação com o osso do D4, característico da região posterior da maxila (Anexos 12, 13 e 14).

4. Avaliação Histológica

A avaliação histológica das amostras do presente estudo piloto, seis meses após a cirurgia de regeneração óssea, baseou-se na análise descritiva dos tecidos observados através de microscopia ótica.

As observações efetuadas sugeriram que as amostras recolhidas, com recurso a brocas trefina, incluíram osso alveolar pré-existente, particulado de dentina autógena remanescente e tecidos recém-formados.

Em todas as amostras foi possível observar um tecido compatível com osso esponjoso, constituído por trabéculas ósseas compostas por osso lamelar e separadas por regiões de medula óssea. O osso lamelar inclui *osteons* ou sistemas de *Havers* (Figura 7A – A), formados por 20 a 30 lamelas concêntricas de fibras colagénicas, a rodear um canal central, constituído por vasos sanguíneos e fibras nervosas, o canal de *Havers* (Figura 7A – B). As regiões, entre trabéculas ósseas, compostas por tecido adiposo unilocular (Figura 7A – D) e estruturas vasculares (Figura 7A – F1), são compatíveis com medula óssea.

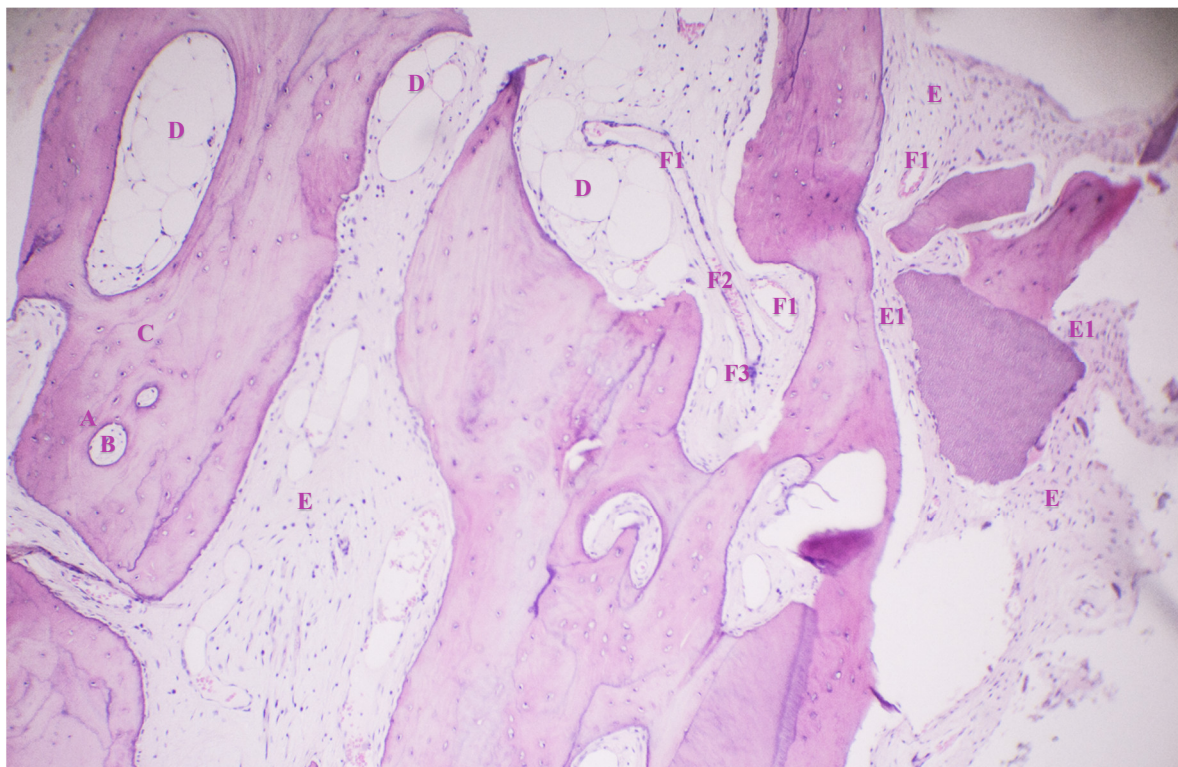


Figura 7A – Fotomicrografia: arquitetura do osso alveolar pré-existente. A – *Osteon*; B – Canal de *Haver*; C – Matriz mineralizada com osteócitos aprisionados em lacunas; D – Tecido adiposo unilocular; E – Tecido conjuntivo; E1 – Tecido conjuntivo com fibroblastos ramificados ativos e osteoblastos; F1 – Vasos sanguíneos; F2 – Eritrócitos; F3 - Macrófago (H&E 100x).

Observou-se uma matriz extracelular óssea, constituída por uma elevada quantidade de osteócitos, aprisionados em lacunas e, por isso, aparentemente mineralizada (Figura 7A – C).

A morfologia arredondada destas células ósseas sugere, mais uma vez, de que se trata de osso esponjoso ou trabecular (Florencio-Silva et al, 2015)

Por outro lado, foi possível observar, em 40% das amostras, a presença de remanescentes do particulado de dentina autógena utilizado no presente estudo piloto. De facto, foi observado um tecido, compatível com dentina, composto por túbulos com uma morfologia em cone invertido (Figura 9 – B).

Adicionalmente, observou-se, em 30% das amostras, uma linha de fronteira, entre duas matrizes (Figura 9 – A e Figura (7C – A), uma matriz tubular compatível com a dentina (Figura 9 – B) e uma matriz atubular (Figura 9 – C), com osteócitos jovens aprisionados em lacunas, compatível com osteóide. Esta linha de fronteira que evidencia um contacto direto entre a dentina e o tecido tipo-osteóide é sugestiva de uma anquiose ou integração tipo-fusão. Por outro lado, a presença de um tecido de estrutura variável entre uma matriz tubular e uma matriz atubular, é compatível com um tecido do tipo osteodentina (Figura 7B – A).

A observação de um número, aparentemente, inferior de osteócitos neste tecido, comparativamente ao osso esponjoso pré-existente no alvéolo dentário, é sugestivo de uma matriz não mineralizada (osteóide). Para além disso, foi possível observar células osteoblásticas, com origem aparente no tecido conjuntivo, a depositar uma matriz tipo-osteóide (Figura 9 – E e F).

Por outro lado, a avaliação histológica permitiu observar tecido conjuntivo vascularizado, constituído por fibroblastos ramificados ativos e osteoblastos, a rodear o tecido tipo- osteodentina e os fragmentos isolados de dentina, formando pontes anastomóticas entre estes tecidos, e entre estes e o osso alveolar pré-existente (Figura 7B – B e Figura 7C – B).

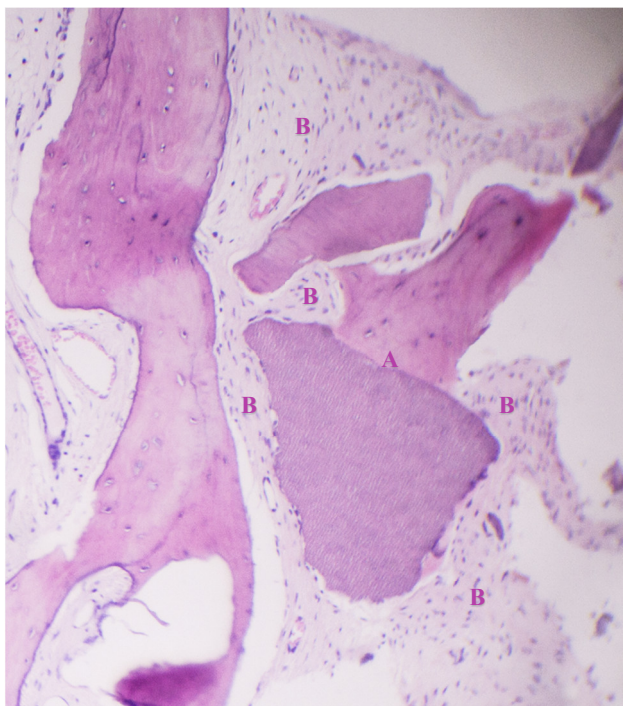


Figura 7B – Fotomicrografia: tecido compatível com osteodentina. A – Tecido com estrutura variável entre uma matriz tubular e uma matriz atubular, compatível com osteodentina; B – Tecido conjuntivo, rico em fibroblastos e osteoblastos; C – Tecido compatível com dentina (H&E 100x).

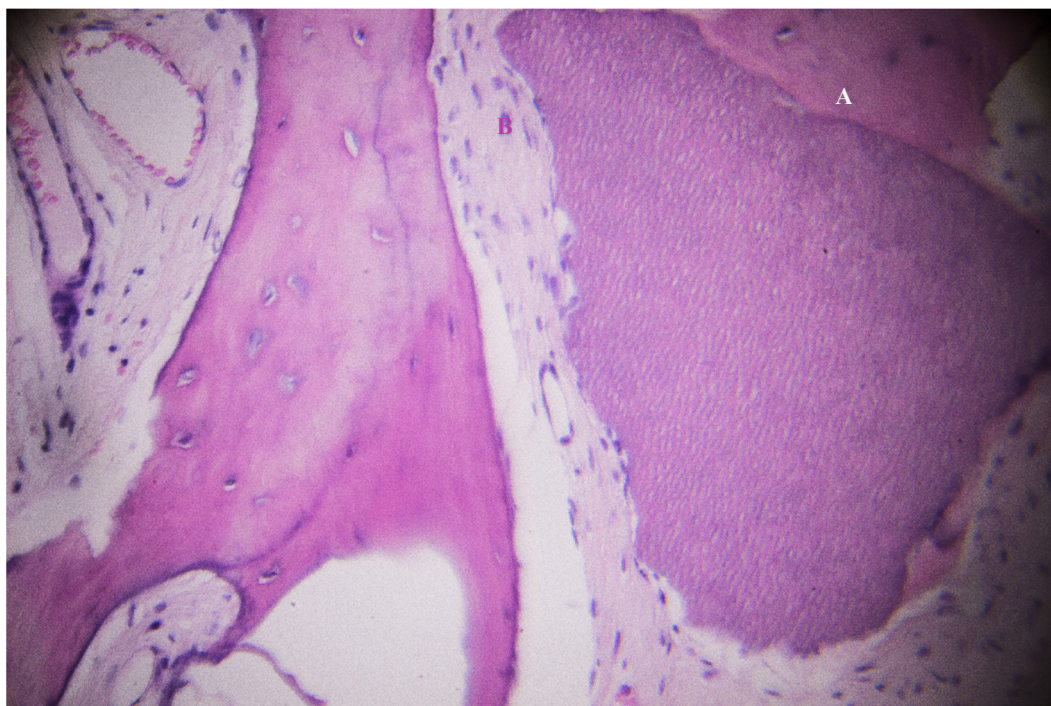


Figura 7C – Fotomicrografia: união entre duas estruturas no tecido tipo-osteodentina. Nesta imagem é visível a linha de fronteira (A) entre as duas matrizes, bem como a presença de tecido conjuntivo, composto por fibroblastos ramificados ativos, a rodear a dentina e a uni-la ao osso alveolar pré-existente (B) (H&E 400x).

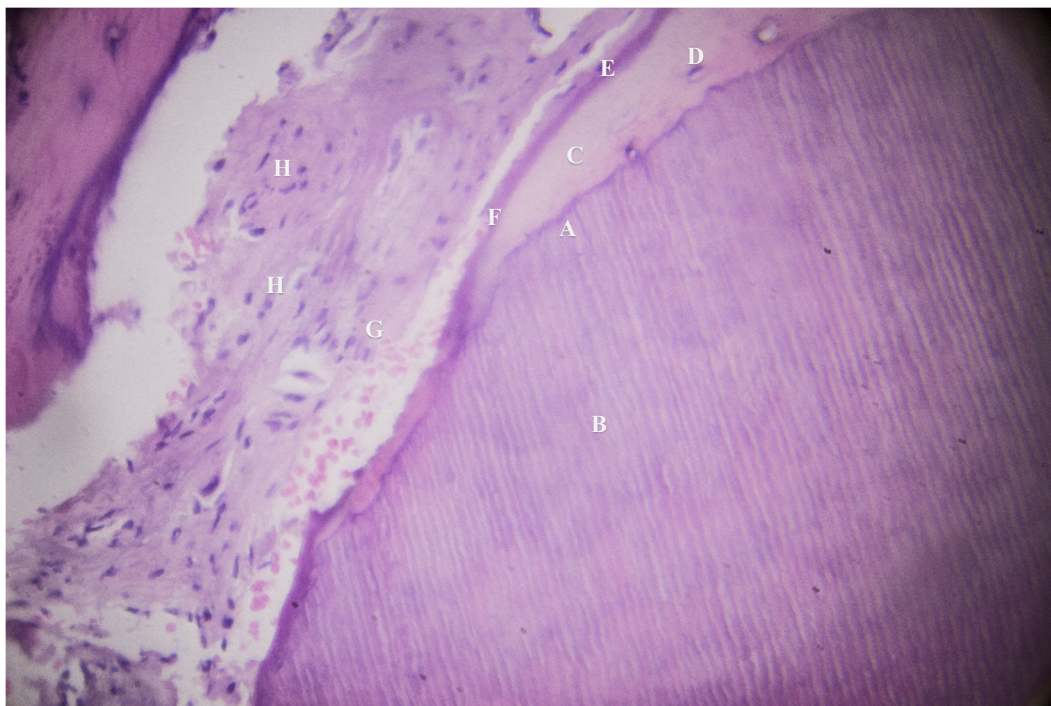


Figura 8 – Fotomicrografia: deposição da matriz tipo-osteóide. É visível a presença de uma linha de fronteira (A) entre uma matriz constituída por túbulos em cone invertido (B) compatível com dentina e uma matriz atubular (C), com osteócitos jovens aprisionados em lacunas (D). Para além disso, observam-se osteoblastos (E) a depositar a matriz osteóide (F). Os osteoblastos têm origem aparente no tecido conjuntivo vascularizado (G) rico em fibroblastos (H) (H&E 400x).

No presente estudo piloto, para além da identificação de pontes de tecido conjuntivo (Figura 9A – A e Figura 9B), a unir diferentes fragmentos de dentina (Figura 9A – B1-B5), foi possível observar uma região composta, aparentemente, por tecido tipo-osteóide, em início de formação (Figura 9A – C). Este tecido localizava-se entre zonas, constituídas por tecido conjuntivo vascularizado, rico em fibroblastos e osteoblastos, que se encontravam unidas à dentina (Figura 9A – A1).

A avaliação histológica das amostras sugere a existência de uma intensa atividade osteoblástica e de uma neovascularização.

Por outro lado, não se verificaram sinais de necrose óssea, nomeadamente presença de um infiltrado inflamatório nos espaços medulares com atividade osteoblástica e osteoclástica, trabéculas ósseas com contornos irregulares ou presença de lacunas sem osteócitos (Kassolis, Scheper, Jham & Reynolds, 2010).

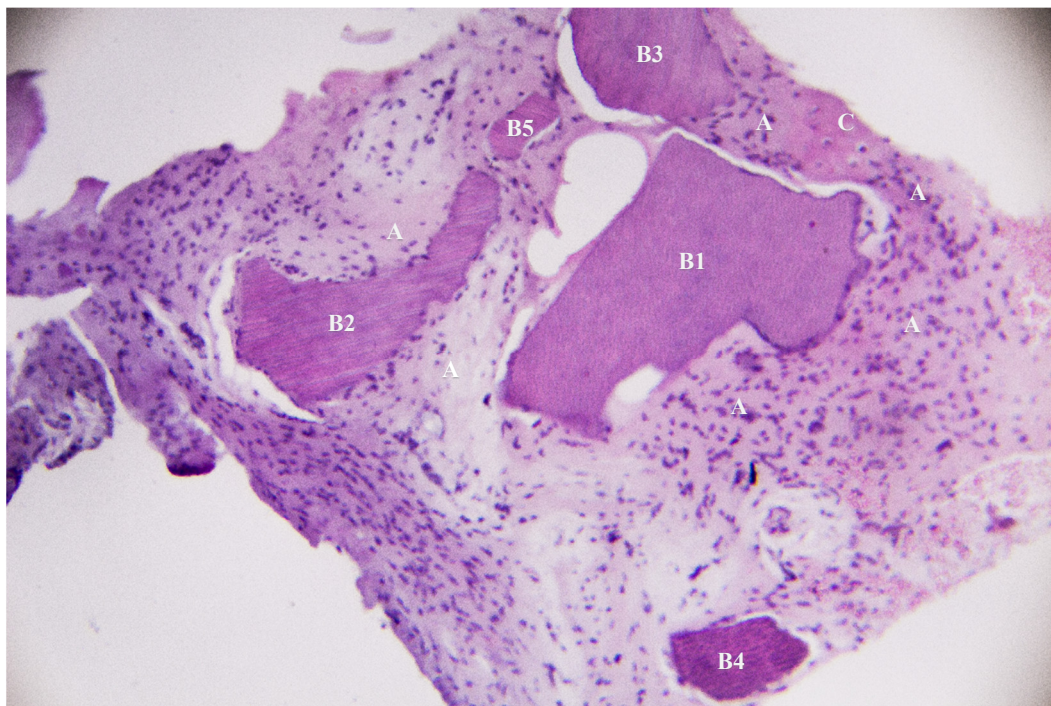


Figura 9A – Fotomicrografia: pontes de tecido conjuntivo entre fragmentos de dentina. É visível na imagem a presença de pontes de tecido conjuntivo (A), rico em fibroblastos e osteoblastos, a unir os fragmentos de dentina (B1-B5) e a aparente formação de uma matriz do tipo-osteóide (C) (H&E 400x).

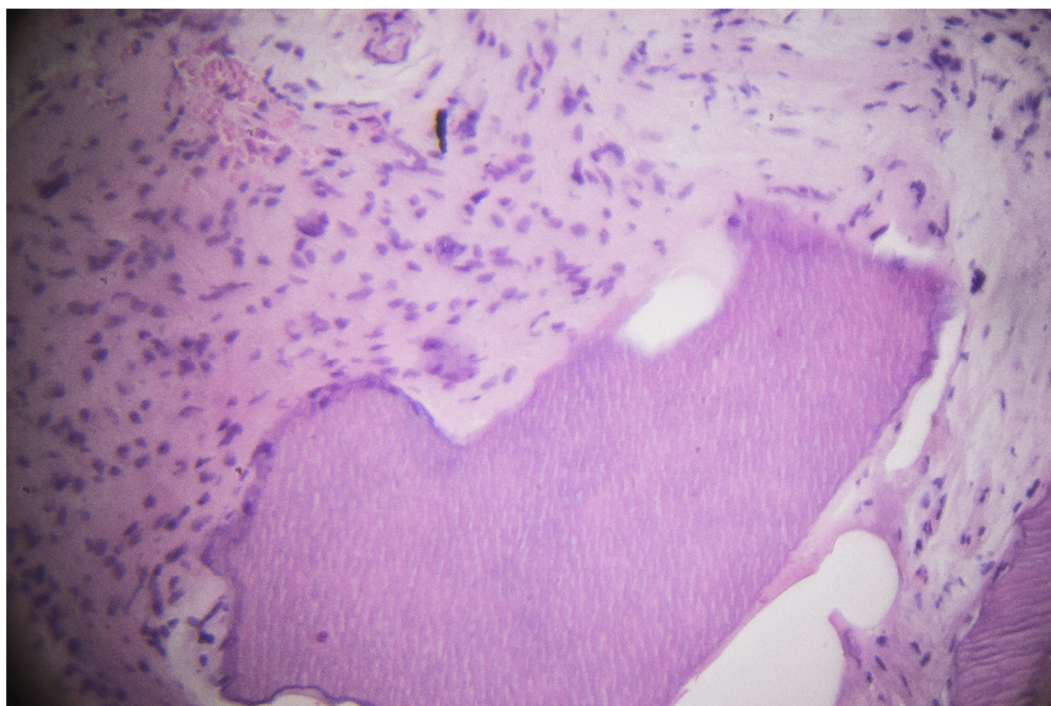


Figura 9B – Fotomicrografia: fragmentos de dentina, em corte oblíquo e transversal, unidos por tecido conjuntivo (H&E 400x).

5. Análise Estatística Descritiva

Biomaterial Remanescente

A presença de biomaterial remanescente foi verificada, em metade das amostras (50%, n=5), através de microscopia ótica que permitiu a observação de um tecido compatível com dentina, constituído por túbulos dentinários (Figura 10).

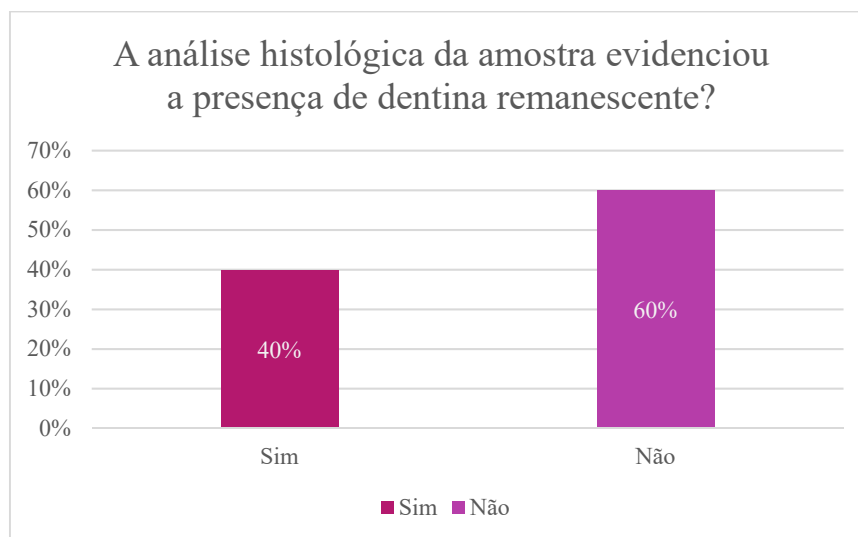


Figura 10 – Gráfico: observação histológica de dentina remanescente.

Matriz Tipo-Osteóide

Através de microscopia ótica foi observada, em metade das amostras (50%, n=5), uma matriz tipo-osteóide com osteócitos jovens (Figura 11).

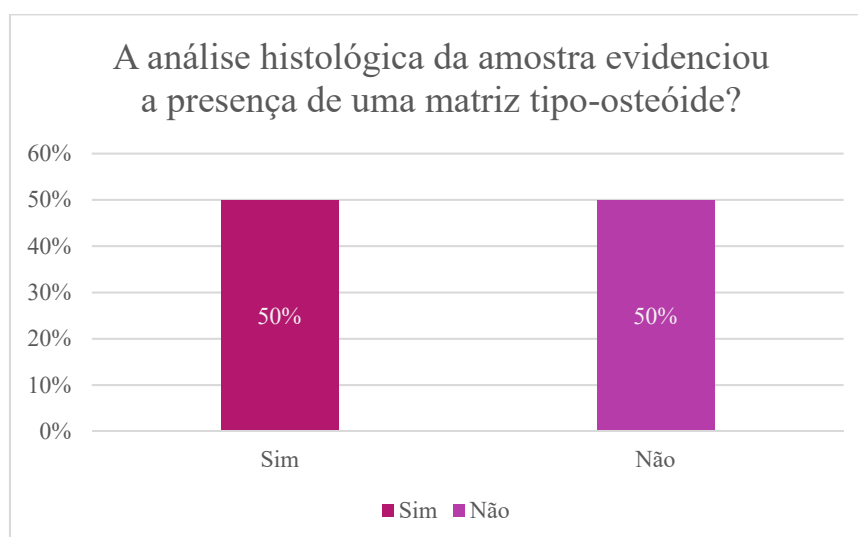


Figura 11 – Gráfico: observação histológica de matriz tipo-osteóide

Fibroblastos em Diferenciação

Foi observada a presença de fibroblastos do tecido conjuntivo a diferenciarem-se em osteoblastos, em metade das amostras (50%, n=5) (Figura 12).

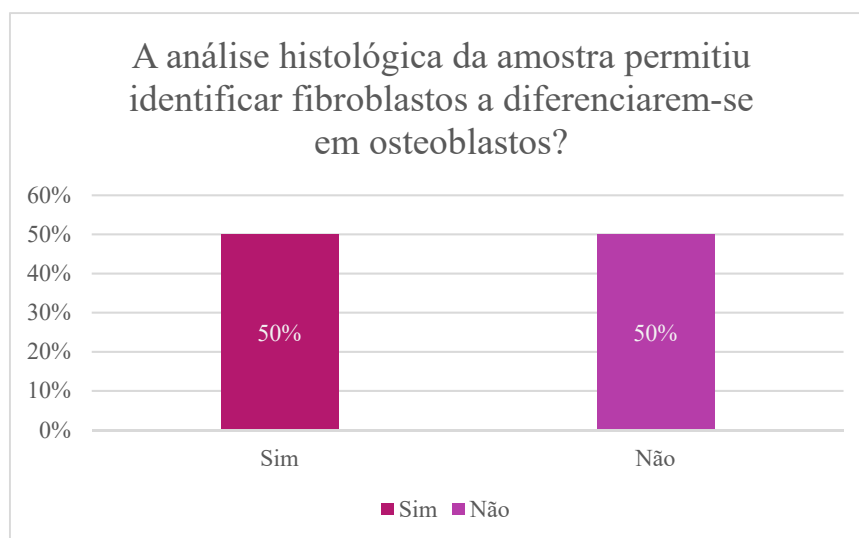


Figura 12 – Gráfico: observação histológica de fibroblastos a diferenciarem-se em osteoblastos

V. DISCUSSÃO

1. Relevância do Estudo

A extração é um dos procedimentos clínicos mais frequentemente realizados em Medicina Dentária (Tan et al., 2012; Binderman et al., 2014).

Os dentes extraídos são considerados “lixo médico” regulamentado e, por isso, são, na maioria das vezes, descartados (Binderman et al., 2014).

Atualmente, a reabilitação oral do edentulismo total e parcial com implantes orais constitui um tratamento de elevada previsibilidade e de sucesso comprovado. De facto, a taxa de sobrevivência implantar, em próteses fixas parciais, é de 95% aos 5 anos e superior a 89% aos 10 anos. Estes números justificam a escolha cada vez mais frequente da reabilitação protodôntica implanto-suportada para o tratamento do edentulismo (Lang et al., 2012; Milinkovic & Cordaro, 2014).

No entanto, como consequência de uma extração, os tecidos sofrem alterações na sua estrutura e composição que podem comprometer o sucesso da terapia implantar (Tan et al., 2012; Atieh et al., 2015; Araújo et al., 2015).

As alterações ósseas verificadas após a cirurgia são significativas, podendo culminar numa redução da largura vestibulo-lingual do osso alveolar, na ordem dos 50% (Tan et al., 2012; Atieh et al., 2015).

Desta forma, a preservação das dimensões ósseas alveolares originais é essencial para a colocação de implantes orais numa posição prosteticamente ideal (Atieh et al., 2015; Pang et al., 2016).

A regeneração óssea tornou possível a colocação de implantes orais em localizações onde a presença de dimensões ósseas inadequadas não o permitiriam ou onde não era possível a obtenção de uma boa estabilidade primária implantar. Atualmente, a utilização de enxertos em regeneração óssea constitui uma técnica de elevada previsibilidade e fiabilidade. Por outro lado, a taxa de sobrevivência de implantes colocados em osso alveolar regenerado é de 93,2%, e, por isso, muito semelhante à verificada em osso alveolar não regenerado, que é de 95% (Milinkovic & Cordaro, 2014; Pang et al., 2016).

Existem inúmeros materiais de enxerto, no entanto o potencial osteogénico do autoenxerto ou enxerto de osso autólogo faz com que este continue a ser considerado o “*gold standard*” em regeneração óssea. No entanto, as desvantagens da sua utilização, relacionadas principalmente com a morbilidade pós-cirúrgica, com a disponibilidade limitada de osso autólogo e com a reabsorção pós-enxerto, motivaram a preferência pela

utilização de xenoenxertos, por parte da maioria dos clínicos (Yip et al., 2014; Koga et al., 2016; Pang et al., 2016)

Os xenoenxertos mais utilizados na prática clínica atual, em alternativa aos enxertos de osso autólogo, possuem uma origem bovina (Yeoungsug Kim et al., 2016; Pang et al., 2016).

A sua utilização está associada ao risco de transmissão de doenças priónicas para o paciente, que raramente é mencionado na literatura. Este risco não deve, no entanto, ser desprezado na medida em que foram detetadas proteínas colagénicas nos xenoenxertos de origem bovina, o que sugere a possibilidade destes materiais de enxerto possuírem o agente causal das doenças priónicas (Kim et al., 2016).

Desta forma, as limitações inerentes à utilização dos enxertos de osso autólogo aliadas ao risco de transmissão de doenças por parte dos xenoenxertos de origem bovina, justificam a necessidade de procura por uma alternativa fiável, um biomaterial ideal (Kim et al., 2013a; Kim et al., 2016; Pang et al., 2016).

Foi neste sentido, e dadas as suas características bioquímicas, que os investigadores se dedicaram ao estudo do potencial de utilização da dentina autógena em regeneração óssea (Kim et al., 2013a; Tabatabaei et al., 2016).

1. Análise da Metodologia Empregue

Protocolo de Processamento Histológico

As amostras recolhidas, com recurso a brocas trefina (#1749-023, Schwert, Germany) foram, posteriormente, submetidas a um processamento histológico e a uma criteriosa análise microscópica.

O processamento histológico de qualquer tipo de amostra compreende, geralmente, quatro fases sequenciais, a fixação, a desidratação, a clarificação ou diafanização e a impregnação (Suvarna, Layton & Bancroft, 2013).

Quando as amostras são constituídas por tecido ósseo é, muitas vezes, necessária a realização de um procedimento adicional, a descalcificação. Esta técnica pressupõe uma fixação prévia do tecido ósseo e deve ser realizada antes da desidratação do mesmo. A descalcificação é essencial para que a impregnação dos tecidos em parafina ocorra de forma eficaz (Suvarna et al., 2013).

Através da fixação dos tecidos é possível, com uma distorção celular mínima, estabilizá-los e endurecê-los. A utilização de um agente fixador permite manter a

integridade das características morfológicas que os tecidos apresentam *in vivo*, na medida em que minimiza a perda de componentes moleculares celulares e extracelulares, mantém a estrutura macromolecular tecidual e protege os tecidos da ação de microrganismos. Desta forma, a fixação dos fragmentos ósseos recolhidos neste estudo piloto previne os efeitos nocivos da descalcificação ácida à qual foram posteriormente submetidos (Suvarna et al., 2013).

Para fixar, utiliza-se, geralmente, uma solução neutra e tamponada de formol a 10%, que contém cerca de 4% por volume de formaldeído (Park et al., 2012; Suvarna et al., 2013; Pang et al., 2016).

Todas as amostras foram fixadas com recurso a esta solução durante 24 horas.

Após a fixação, os fragmentos ósseos recolhidos foram submetidos a um processo de descalcificação, que permite que o cálcio inorgânico seja removido da matriz óssea extracelular, do tecido cartilágneo e de outros tecidos circundantes ao osso (Suvarna et al., 2013).

No presente estudo utilizou-se o “*DC3 QPATH*” que, de acordo com as instruções do fabricante, é um descalficador rápido, indicado para a descalcificação e fixação de amostras com pequenas dimensões. Um dos pressupostos para a sua utilização é que as amostras tenham sido submetidas previamente ao processo de fixação. Tal pressuposto foi assegurado neste estudo.

De acordo com o fabricante, o “*DC3 QPATH*” é composto por soluções surfactantes não-iónicas, ácido hidrocloreídrico (HCL) e ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA).

O HCL é um ácido inorgânico forte, geralmente utilizado em amostras de pequenas dimensões. Provoca uma descalcificação rápida, e, por isso, é muito utilizado em situações nas quais se pretende realizar a análise histológica com a maior brevidade possível (Suvarna et al., 2013).

Por outro lado, o EDTA é um agente quelante, capaz de se ligar a iões metálicos como o cálcio e o magnésio. Ao estabelecer uma ligação com os iões de cálcio que se encontram na superfície externa dos cristais de apatite do osso, o EDTA provoca a descalcificação destes cristais e, conseqüentemente, a diminuição progressiva do seu tamanho (Suvarna et al., 2013).

O volume do agente descalficador utilizado em cada uma das amostras foi 20 vezes superior ao volume da amostra, tal como preconizam os autores Suvarna et al (2013).

Existem vários métodos de determinação do fim do processo de descalcificação (Suvarna et al., 2013).

O “*Bubble Test*” é um exemplo, no entanto foi utilizado neste estudo apenas com o objetivo de acompanhar a progressão do processo de descalcificação. A formação de bolhas na superfície do fragmento ósseo representa a diminuição da sua quantidade de cálcio. Este fenómeno acontece porque os ácidos presentes no agente descalcificador reagem com o cálcio carbonatado do osso, resultando na libertação de dióxido de carbono. No entanto, quando utilizado com a finalidade de determinar o fim do processo de descalcificação o “*Bubble Test*” é considerado subjetivo e pouco fiável (Suvarna et al., 2013).

O método mais sensível para determinar a ausência de cálcio num fragmento ósseo, e portanto o fim do processo de descalcificação, é o teste radiográfico, o que justifica a escolha deste método no presente estudo piloto (Suvarna et al., 2013).

Para o método radiográfico utilizou-se o aparelho de raio-x Fona XDG® (Fona Dental, Bratislava, Eslováquia), o programa Sidexis XG (Sirona Dental, Salzburg, Áustria) e o sistema RVG HDR-500-600 (Handy, Xangai, China). Foram efetuadas quatro radiovisiografias (RVGs), com valores de intensidade e tensão de 0,56 mA e 70 kV, ao fim de 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos e 30 minutos, após o início do processo de descalcificação.

Posteriormente, as amostras foram lavadas em água corrente durante 30 minutos, com o objetivo de remover e/ou neutralizar quimicamente os ácidos provenientes do agente descalcificador. Este procedimento é indicado quando as amostras apresentam pequenas dimensões e quando o agente descalcificador utilizado possui EDTA na sua composição. De facto, os tecidos descalcificados com recurso a EDTA não podem ser colocados diretamente no álcool a 70%, a primeira solução de desidratação, na medida que há a possibilidade de existir uma quantidade residual de EDTA, que ao reagir com o álcool forma um precipitado capaz de comprometer a correta análise histológica dos tecidos. Desta forma, a lavagem com água corrente previne a presença de EDTA residual (Suvarna et al., 2013).

Após a lavagem, as amostras foram introduzidas num processador histológico automático.

Este equipamento é amplamente preconizado na literatura. Permite realizar os procedimentos de desidratação e diafanização com maior eficácia e qualidade (Suvarna et al., 2013).

Numa primeira fase, as amostras foram imersas sequencialmente em soluções aquosas de etanol, com gradientes crescentes, 70%, 95% e 100%, respetivamente. O etanol garante

uma desidratação total dos tecidos, e é considerado o “*gold standard*” dos reagentes de desidratação. Este processo tem como principais objetivos remover a água e o formol (Suvarna et al., 2013).

Posteriormente, as amostras foram imersas em xilol, iniciando-se o processo de clarificação ou diafanização. O xilol é miscível no etanol e na parafina e, por isso, atua como um agente intermediário entre a desidratação das amostras provocada pelo etanol e a sua infiltração e impregnação em parafina. A diafanização é um processo que permite a remoção do etanol e que torna as amostras recetivas à infiltração e impregnação em parafina (Suvarna et al., 2013).

Atualmente, a parafina constitui a solução de infiltração e impregnação mais utilizada no processamento histológico. É sólida à temperatura ambiente e o seu ponto de fusão varia entre 47 e 64°C (Suvarna et al., 2013).

No processador histológico automático utilizado, existem um recipiente de formol, dois recipientes de etanol a 75%, dois recipientes de etanol a 95%, três recipientes de etanol a 100%, dois recipientes de xilol e dois recipientes de parafina. As amostras permanecem uma hora em cada um dos recipientes de formol, etanol e xilol e duas horas nos recipientes que contêm a parafina. Perfazendo um total de 14 horas para o processamento histológico, excluindo as etapas de fixação e descalcificação.

Após o processamento histológico, as amostras são submetidas a um processo de inclusão em parafina, que uma vez sólida, é responsável por conferir às amostras o suporte necessário para que, numa fase posterior, estas possam ser seccionadas sem que a sua estrutura tecidular sofra distorção (Suvarna et al., 2013).

A secção dos blocos foi feita com recurso a um micrótomo rotatório ou de *Minot*. Neste equipamento a lâmina move-se em direção ao bloco por um mecanismo que pode ser totalmente manual, semiautomático ou totalmente automático (Suvarna et al., 2013).

Os blocos foram seccionados com 3,5 µm de espessura e posteriormente colocadas em lâminas carregadas electrostaticamente com cargas positivas.

De facto, a espessura de corte das amostras obtidas através de uma broca trefina deve variar entre os 2-3µm (Lee, Erber, Porwit, Tomonaga, & Peterson, 2008).

Todas as amostras foram coradas com hematoxilina-eosina (H&E), a coloração mais frequentemente utilizada em histologia e aquela que é indicada para amostras obtidas através de uma broca trefina (Lee et al., 2008; Suvarna et al., 2013).

A hematoxilina-eosina tem a capacidade de corar inúmeras estruturas tecidulares e a sua técnica é simples (Suvarna et al., 2013).

O componente hematoxilina tem a capacidade de corar os núcleos das células de azul. Por outro lado, o componente eosina cora os citoplasmas das células e as fibras da maioria dos tecidos conjuntivos em tons de rosa, laranja e vermelho. Os diferentes tons que a eosina confere às estruturas tecidulares, permitem uma correta distinção entre citoplasmas de células diferentes bem como entre as fibras e as matrizes extracelulares de tecidos conjuntivos com origens distintas (Suvarna et al., 2013).

2. Interpretação da Avaliação Histológica

A avaliação histológica dos fragmentos ósseos recolhidos, no presente estudo piloto, com recurso a brocas trefina (#1749-023, Schwert, Germany) de 2,3mm de diâmetro interno, 2,35mm de diâmetro externo e 7mmmm de comprimento, sugeriu que estes incluíam osso alveolar pré-existente, particulado de dentina autógena remanescente e tecidos recém-formados.

Estes resultados estão em concordância com os do estudo de Pang et al (2016), no qual o método de recolha dos fragmentos ósseos, a avaliar histologicamente, também consistiu na utilização de brocas trefina, com diâmetros semelhantes (2,3mm de diâmetro interno e 3mm de diâmetro externo), seis meses após a cirurgia de regeneração óssea.

Por outro lado, a observação de tecidos de estrutura tubular, compatíveis com dentina, em 40% das amostras, mostra a presença de remanescentes do particulado de dentina utilizado.

Kim et al (2014a, 2014b) e Pang et al (2016) também observaram dentina, nas suas avaliações histológicas, quatro e seis meses após a cirurgia de regeneração óssea, respetivamente. No entanto, ambos os estudos utilizaram, como biomaterial, um particulado de dentina desmineralizada, o “*AutoBT*®”.

À semelhança dos dois autores anteriormente descritos, Kim (2015) também utilizou a dentina desmineralizada, mas em forma de bloco e de fragmentos, o “*AutoFDT*®”.

Pelo contrário, o presente estudo piloto utilizou, à semelhança de Binderman et al (2014), um particulado de dentina autógena mineralizada, obtido através da utilização do equipamento “*Smart Dentin Grinder*®”, e aplicado no mesmo tempo cirúrgico que a extração. Neste sentido, os resultados que obtivemos foram muito semelhantes aos de Binderman et al (2014). Relativamente à presença de dentina remanescente, ela foi verificada pelo mesmo autor, três meses após a cirurgia de regeneração óssea.

Contrariamente a Binderman et al (2014) e ao presente estudo piloto, Pang et al (2016), aplicaram o “*AutoBT*®”, duas a quatro semanas após a extração.

De acordo com o protocolo de utilização do “*AutoBT*®”, após a extração o dente é armazenado num recipiente contendo álcool a 75% e, posteriormente, colocado num frigorífico até ser enviado para o Korea Tooth Bank (Seoul, Korea), onde é processado (Pang et al., 2016). O período de espera, pelo processamento do “*AutoBT*®”, pode ir de várias horas a vários dias. Consequentemente, é necessária a realização de um procedimento cirúrgico adicional à cirurgia de extração (Binderman et al., 2014).

Em concordância com o presente estudo piloto, o estudo de Pang et al (2016), também evidencia que o particulado de dentina autógena não é completamente reabsorvido, seis meses após a sua aplicação, o que pode ser explicado pela variabilidade de conteúdo mineral existente entre o esmalte, a dentina e o osso alveolar (Qin et al., 2014).

Os cristais de hidroxiapatite da dentina apresentam um grau de mineralização muito semelhante ao da apatite do osso alveolar (Kim et al., 2013a).

No entanto, os cristais de hidroxiapatite do esmalte possuem um grau de mineralização superior ao dos cristais da dentina e do osso alveolar (Kim et al., 2013a).

Apesar de maioritariamente composto por dentina, o particulado testado no presente estudo piloto, pode incluir na sua composição esmalte e cimento, uma vez que, de acordo com o protocolo adotado, ambas as porções dentárias, coronária e radicular, podem ser utilizadas.

Do mesmo modo, o “*AutoBT*-Enamel®” ou coronário apresenta, para além da dentina, esmalte na sua constituição enquanto o “*AutoBT*-Dentin®” ou radicular é composto por dentina e cimento (Kim et al., 2011; Park et al., 2012; Kim et al., 2013a).

O “*AutoBT*®” é submetido a um processo de desmineralização parcial (Kim et al., 2014a).

Desta forma, o particulado utilizado no presente estudo piloto, mineralizado, e o “*AutoBT*®”, parcialmente desmineralizado, podem incluir na sua composição componentes altamente mineralizados, provenientes do esmalte, que dificilmente são decompostos pelas células osteoclásticas, o que resulta numa reabsorção lenta do biomaterial, e consequentemente em fracas propriedades osteocondutoras (Kim et al., 2013a; Kim et al., 2014a; Qin et al., 2014).

Por outro lado, alguns autores afirmam que a presença de conteúdo mineral, nomeadamente cristais de hidroxiapatite, pode bloquear a libertação de fatores de crescimento, comprometendo, consequentemente, as propriedades osteoindutoras da dentina (Kim et al., 2013a).

No entanto, à semelhança de Andersson et al (2010), Lee, Kim, Yi & Choi (2013), Binderman et al (2014), Kim et al (2014a, 2014b), Qin et al (2014) e Pang et al (2016) a avaliação histológica das amostras, do presente estudo piloto, revelou a existência de uma linha de fronteira entre uma matriz de estrutura tubular compatível com dentina e uma matriz atubular compatível com osteóide.

O contacto direto entre a dentina e o tecido do tipo-osteóide sugere, por um lado, uma anquiose ou integração do tipo-fusão ou interdigitação, e por outro, a existência de propriedades osteocondutoras por parte do particulado de dentina autógena utilizado (Andersson et al., 2010; Qin et al., 2014; Kim, Kang, Kim, Kim & Lee, 2016; Pang et al., 2016).

De acordo com Gomes et al (2002), Moharamzadeh et al (2008), Bormann et al (2012), De Oliveira (2013) e Qin et al (2014), a observação microscópica de um contacto direto entre a dentina e o tecido tipo-osteóide evidencia, ainda, uma boa osteointegração do material de enxerto.

Por outro lado, Kim (2015), refere que este tipo de integração entre a dentina e o tecido do tipo-osteóide implica que os túbulos dentinários constituem nichos para células que participam nos mecanismos de osteogénese. Para além disso, Kim et al (2010) refere que após a utilização da dentina como biomaterial em regeneração óssea, os túbulos dentinários atuam na difusão de nutrientes.

A nossa interpretação pretende ainda realçar que o tecido observado, na avaliação histológica, apresenta características compatíveis com a osteodentina.

A osteodentina caracteriza-se por uma estrutura que varia entre uma matriz tubular, fisiologicamente semelhante à matriz dentinária, e uma matriz atubular (Smith, 2003).

É observada durante o desenvolvimento dentário de algumas espécies de mamíferos, particularmente roedores. Quando surge em humanos, consiste num tipo de dentina terciária ou reacionária, cuja formação foi identificada, por exemplo, após a aplicação de fatores de crescimento na proteção pulpar direta (Smith, 2003; Goldberg et al., 2012).

Num estudo de Tziafas et al (1998), comprovou-se que o FGF e o IGF-II induziram a formação de osteodentina à distância quando aplicados na polpa dentária de cães (Mazzoni et al., 2012). Os dois fatores de crescimento, anteriormente descritos, estão presentes na matriz dentinária (Smith et al., 2012; Mazzoni et al., 2012).

A avaliação histológica permitiu ainda observar tecido conjuntivo vascularizado, constituído por fibroblastos ramificados ativos e osteoblastos, a rodear o tecido compatível com osteodentina e os fragmentos isolados de dentina, formando pontes

anastomóticas entre estes tecidos, e entre estes e o osso alveolar pré-existente, o que está em concordância com a avaliação histológica de Kim et al (2014a) e de Kim et al (2014b).

Por outro lado, foi possível observar, células osteoblásticas, com origem aparente no tecido conjuntivo, a depositar uma matriz tipo-osteóide, o que sugere que a dentina possui propriedades osteoindutoras. Através dos seus fatores de crescimento a dentina parece estimular o recrutamento de células mesenquimais do tecido conjuntivo, que se diferenciam em osteoblastos e que uma vez maturados, depositam uma matriz osteóide (Miron & Zhang, 2012; Liu & Kerns, 2014).

No presente estudo piloto, utilizou-se um particulado de dentina mineralizada. Ainda assim, a observação microscópica de uma intensa atividade osteoblástica está em concordância com os resultados obtidos por De Oliveira et al (2013), que observaram a formação ativa de novo osso e a diferenciação de células osteoblásticas, após a utilização de fragmentos de dentina desmineralizada humana em defeitos ósseos de ratos. Contrariamente ao presente estudo piloto, Koga et al (2016), não observou células osteoblásticas junto às partículas de dentina mineralizada humana, 8 semanas após a sua utilização em defeitos ósseos de ratos.

Desta forma, sugerimos que a presença de matéria mineral, nomeadamente cristais de hidroxiapatite, pode não comprometer a libertação de fatores de crescimento, e consequentemente, o processo de regeneração óssea, contrariamente ao que é referido no estudo de Kim et al (2013a). No entanto são necessários mais estudos para o comprovar.

A observação de fenómenos de neovascularização, nas amostras do presente estudo piloto, está em concordância com os estudos de Bormann et al (2012) e Reis-Filho et al (2012).

De acordo com Kim et al (2014b), a presença de vasos sanguíneos e de células ativas no tecido conjuntivo sugere, ainda, que o processo de remodelação tecidular está ativo e que a dentina possui propriedades osteocondutoras.

Na avaliação histológica do presente estudo, não se verificou a presença de sinais inflamatórios ou de necrose óssea, o que está em concordância com os estudos de Andersson et al (2010), Kim et al (2014b), Kim (2015) e Pang et al (2016).

O presente estudo piloto apresenta como principais limitações o número relativamente pequeno de pacientes e de amostras histológicas, bem como a utilização de um método exclusivamente qualitativo de avaliação histológica, a avaliação histológica descritiva através de microscopia ótica.

Os estudos clínicos, sobre o tema do presente estudo, são, na sua maioria, estudos de caso e séries de caso. De facto, o único ensaio clínico randomizado e controlado encontrado foi publicado por Pang et al (2016).

As múltiplas diferenças entre os estudos clínicos publicados tornam difícil a elaboração de uma revisão sistemática sobre o tema.

Por isso, é necessário que se desenvolvam mais ensaios clínicos randomizados e controlados, para que se possa avaliar, com um elevado nível de evidência científica, a eficácia clínica da utilização de um particulado de dentina autógena mineralizada comparando-a com a de outros materiais de enxerto disponíveis no mercado.

3. Perspetivas Futuras

No futuro, os nossos principais objetivos consistem em aumentar o número da amostra; realizar uma análise histomorfométrica, seis meses após a utilização de um particulado de dentina autógena mineralizada na regeneração óssea alveolar pós-extração, com o objetivo de quantificar a percentagem de novo osso formado; comparar os resultados clínicos, radiográficos, histológicos e histomorfométricos entre um grupo submetido à utilização da dentina autógena mineralizada e um grupo submetido à utilização de osso bovino inorgânico (*Bio-Oss*®; Geistlich AG, Wollhusen, Switzerland), na regeneração óssea de defeitos com as mesmas características; e, por último, quantificar a estabilidade implantar obtida, previamente à tomada de impressões, com recurso a um dispositivo de radiofrequência (*Osstell Mentor*®, Integration Diagnostics, Göteborg, Sweden).

VI. CONCLUSÃO

A dentina é um potencial biomaterial em regeneração óssea. Apresenta inúmeras semelhanças com o osso alveolar, relativamente à estrutura e composição, e uma elevada disponibilidade, uma vez que constitui o componente estrutural dentário mais volumoso.

As suas características únicas permitem a sua utilização como um substituto ósseo e como uma fonte de fatores de crescimento.

A literatura descreve vários métodos de processamento da dentina. No presente estudo piloto, o método de processamento utilizado permitiu, em apenas 15-20 minutos, a obtenção de um particulado de dentina autógena mineralizada, pronto a utilizar em regeneração óssea.

Após a utilização da dentina na regeneração óssea alveolar pós-extração, verificou-se uma cicatrização alveolar favorável e a ausência de complicações pós-operatórias.

A avaliação radiográfica, realizada seis meses após a cirurgia de regeneração óssea, evidenciou uma maior concentração de osso do tipo D2, seguida de osso do tipo D3. Por este motivo, o presente estudo sugere a possibilidade de confirmação da hipótese nula, na medida em que a utilização da dentina parece levar à formação de osso do tipo D2 (elevada densidade) e D3 (densidade intermédia), que permitiu a colocação de implantes orais com uma boa ancoragem, em todos os casos.

Por outro lado, a avaliação histológica permite-nos sugerir que o particulado de dentina autógena mineralizada apresenta uma boa integração tecidular, propriedades osteocondutoras e osteoindutoras. Para além disso, estabelece com o tecido osteóide recém-formado um contacto direto, que evidencia uma relação de anquiose, fusão ou interdigitação, resultando numa estrutura tecidular compatível com osteodentina.

No entanto, é necessário realizar mais estudos prospetivos clínicos e histomorfométricos, com uma maior amostra, bem como ensaios clínicos randomizados e controlados que permitam, por um lado, uma melhor compreensão sobre o potencial de utilização da dentina na regeneração óssea e, por outro, a comparação de resultados com outros materiais de enxerto, disponíveis no mercado.

VII. BIBLIOGRAFIA

Alayan, J. (2015). A histomorphometric assessment of collagen-stabilized anorganic bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation – a randomized controlled trial in sheep, 1–10. <http://doi.org/10.1111/clr.12652>

Alkan, E. A., Parlar, A., Yildirim, B., & Sengüven, B. (2013). Histological comparison of healing following tooth extraction with ridge preservation using enamel matrix derivatives versus Bio-Oss Collagen: A pilot study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 42(12), 1522–1528. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.06.002>

Andersson, L. (2010). Dentin xenografts to experimental bone defects in rabbit tibia are ankylosed and undergo osseous replacement. *Dental Traumatology*, 26(5), 306–310. <http://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2010.00912.x>

Araújo, M. G., da Silva, J. C. C., de Mendonça, A. F., & Lindhe, J. (2014). Ridge alterations following grafting of fresh extraction sockets in man: A randomized clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*, 26(4), 407–412. <http://doi.org/10.1111/clr.12366>

Araújo, M., Silva, C., Misawa, M., & Sukekava, F. (2015). Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontology 2000*, 68, 122–134.

Atieh, M. A., Alsabeeha, N. H. M., Payne, A. G. T., Duncan, W., Faggion, C. M., & Esposito, M. (2015). Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5(5), CD010176. <http://doi.org/10.1002/14651858.CD010176.pub2>

Atiya, B. K., & Abdulrazzak, S. (2014). Liquid Nitrogen–Treated Autogenous Dentin as Bone Substitute: An Experimental Study in a Rabbit Model, 165–171. <http://doi.org/10.11607/jomi.te54>

Avila-Ortiz, G., Elangovan, S., Kramer, K. W. O., Blanchette, D., & Dawson, D. V. (2014). Effect of Alveolar Ridge Preservation after Tooth Extraction: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Dental Research*, 93(10), 950–958. <http://doi.org/10.1177/0022034514541127>

Bhatia A, Albazzaz M, Espinoza Orias AA, Inoue N, Miller LM, Acerbo A, George A, Sumner DR. Overexpression of DMP1 accelerates mineralization and alters cortical bone biomechanical properties in vivo. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2012; 5:1–8. [PubMed: 22100074]

Binderman, I., Hallel, G., Nardy, C., Yaffe, A., & Sapoznikov, L. (2014). A Novel Procedure to Process Extracted Teeth for Immediate Grafting of Autogenous Dentin. *Interdisciplinary Medicine and Dental Science*, 2(6), 2–6. <http://doi.org/10.4172/jimds.1000154>

- Binderman, I., Yaffe, A., Samuni, Y., Biology, O., Goldschleger, G., & Practice, P. (2012). Tissue Engineering of Bone : Critical Evaluation of Scaffold Selection. <http://doi.org/10.5772/33004>
- Bormann, K. H., Suarez-Cunqueiro, M. M., Sinikovic, B., Kampmann, A., von See, C., Tavassol, F., Rücker, M. (2012). Dentin as a suitable bone substitute comparable to β -TCP-an experimental study in mice. *Microvascular Research*, 84(2), 116–122. <http://doi.org/10.1016/j.mvr.2012.06.004>
- Brkovic, B.M., Prasad, H.S., Rohrer, M.D., Konandreas, G., Agrogiannis, G., Antunovic, D. & Sandor, G.K. (2012) Beta-tricalcium phosphate/ type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing: Clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. *Clinical Oral Investigation* 16: 581–590. <http://doi.org/10.1007/s00784-011-0531-1>
- Chang, H.-Y., Kwon, Taek-Ka, Nunn, M., Miyamoto, T., Lee, K.-W., Kim, Y.-K., & Lee, Hyo-Jung. (2014). Feasibility Analysis of Autogenous Tooth-based Bone Graft Material after Guided Bone Regeneration Technique. *Journal of Case Reports and Studies*, 1(6), 1–7. <http://doi.org/10.15744/2348-9820.1.604>
- Cho, Y. D., Yoon, W. J., Woo, K. M., Baek, J. H., Park, J. C., & Ryoo, H. M. (2010). The canonical BMP signaling pathway plays a crucial part in stimulation of dentin sialophosphoprotein expression by BMP-2. *Journal of Biological Chemistry*, 285(47), 36369–36376. <http://doi.org/10.1074/jbc.M110.103093>
- Cordaro L, Torsello F, Morcavallo S, di Torresanto VM. Effect of bovine bone and collagen membranes on healing of mandibular bone blocks: a prospective randomized controlled study. *Clin Oral Implants Res* 2011; 22: 1145–1150.
- De Dios Teruel, J., Alcolea, A., Hernández, A., & Ruiz, A. J. O. (2015). Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Archives of Oral Biology*, 60(5), 768–775. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.01.014>
- De Oliveira, G. S., Miziara, M. N., Silva, E. R. Da, Ferreira, E. L., Biulchi, A. P. F., & Alves, J. B. (2013). Enhanced bone formation during healing process of tooth sockets filled with demineralized human dentine matrix. *Australian Dental Journal*, 58(3), 326–332. <http://doi.org/10.1111/adj.12088>
- Donos, N., Dereka, X., & Mardas, N. (2015). Experimental models for guided bone regeneration in healthy and medically compromised conditions. *Periodontology* 2000, 68(1), 99–121. <http://doi.org/10.1111/prd.12077>
- Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. D. S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J., & Cerri, P. S. (2015). Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *BioMed Research International*, 2015, 1–17. <http://doi.org/10.1155/2015/421746>
- Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., & Boskey, A. (2011). Dentin: structure, composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 3, 711–35. <http://doi.org/10.2741/e281>

- Gomes, M. F., Abreu, P. P. de, Morosolli, A. R. C., Araújo, M. M., & Goulart, M. das G. V. (2006). Densitometric analysis of the autogenous demineralized dentin matrix on the dental socket wound healing process in humans. *Brazilian Oral Research*, 20(4), 324–30. <http://doi.org/S1806-83242006000400008>
- Gomes, M. F., Anjos, M., Nogueira, T., & Guimarães, S. (2002). Autogenous Demineralized Dentin Matrix for Tissue Engineering Applications : *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 17(4), 488–497.
- Gong, T., Xie, J., Liao, J., Zhang, T., Lin, S., & Lin, Y. (2015). Nanomaterials and bone regeneration. *Bone Research*, 3(August), 15029. <http://doi.org/10.1038/boneres.2015.29>
- Gulsahi, A. (2011). Bone Quality Assessment for Dental Implants. <http://doi.org/10.5772/964>
- Hämmerle, C. H. F., Araújo, M. G., & Simion, M. (2012). Evidence-based knowledge on the biology and treatment of extraction sockets. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL. 5), 80–82. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02370.x>
- Heinemann, F., Hasan, I., Schwahn, C., Bourauel, C., & Mundt, T. (2012). Bone level change of extraction sockets with Bio-Oss collagen and implant placement: A clinical study. *Annals of Anatomy*, 194(6), 508–512. <http://doi.org/10.1016/j.aanat.2011.11.012>
- Henkel, J., Woodruff, M. A., Epari, D. R., Steck, R., Glatt, V., Dickinson, I. C., Choong, Peter, Hutmacher, D. W. (2013). Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions – A 21st Century Perspective. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 183–95. <http://doi.org/10.2147/IJN.S49460>
- Horowitz, R., Holtzclaw, D., & Rosen, P. S. (2012). A review on alveolar ridge preservation following tooth extraction. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 12(3 SUPPL.), 149–160. [http://doi.org/10.1016/S1532-3382\(12\)70029-5](http://doi.org/10.1016/S1532-3382(12)70029-5)
- Jambhekar, S., Kernan, F., & Bidra, A. S. (2015). Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction: A systematic review of randomized controlled clinical trials. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 113(5), 371–382. <http://doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.12.009>
- Jeong, K.-I., Kim, S.-G., Kim, Y.-K., Oh, J.-S., Jeong, M.-A., & Park, J.-J. (2011). Clinical study of graft materials using autogenous teeth in maxillary sinus augmentation. *Implant Dentistry*, 20(6), 471–5. <http://doi.org/10.1097/ID.0b013e3182386d74>
- Jung, R. E., Glauser, R., Scharer, P., Hammerle, C. H. F., Sailer, H. F., & Weber, F. E. (2003). Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, 14(5), 556–568. <http://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2003.00921.x>
- Jung, R.E., Fenner, N., Hammerle, C.H. & Zitzmann, N.U. (2013) Long-term outcome of implants placed with guided bone regeneration (gbr) using resorbable and

non-resorbable membranes after 12-14 years. *Clinical Oral Implants Research* 24: 1065–1073

Kadkhodazadeh, M., Ghasemianpour, M., Soltanian, N., & Sultanian, G. R. (2015). Effects of fresh mineralized dentin and cementum on socket healing : a preliminary study in dogs, 119–123. <http://doi.org/10.1155/2012/396316>.

Kenneth, M. Hargreaves, Cohen, Stephen & Berman, Louis (2016), *Cohen's Pathways of the Pulp* (10th Edition), Mosby

Kim, E.-S. (2015). Autogenous fresh demineralized tooth graft prepared at chairside for dental implant. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, 37(1), 8. <http://doi.org/10.1186/s40902-015-0009-1>

Kim, E.-S., Kang, J.-Y., Kim, J.-J., Kim, K.-W., & Lee, E.-Y. (2016). Space maintenance in autogenous fresh demineralized tooth blocks with platelet-rich plasma for maxillary sinus bone formation: a prospective study. *SpringerPlus*, 5, 274. <http://doi.org/10.1186/s40064-016-1886-1>

Kim, Y. K., Kim, S. G., Byeon, J. H., Lee, H. J., Um, I. U., Lim, S. C., & Kim, S. Y. (2010). Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 109(4), 496–503. <http://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.10.017>

Kim, Y. K., Lee, J. H., Um, I. W., & Cho, W. J. (2016). Guided Bone Regeneration Using Demineralized Dentin Matrix: Long-Term Follow-Up. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 74(3), 515e1-515e9. <http://doi.org/10.1016/j.joms.2015.10.030>

Kim, Y., Rodriguez, A. E., & Nowzari, H. (2016). The Risk of Prion Infection through Bovine Grafting Materials. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 0(0), 1–8. <http://doi.org/10.1111/cid.12391>

Kim, Y.-K. (2012). Bone graft material using teeth. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgery*, 38, 134–8. <http://doi.org/10.5125/jkaoms.2012.38.3.134>

Kim, Y.-K. ., Kim, S.-G. ., Oh, J.-S. ., Jin, S.-C. ., Son, J.-S. ., Kim, S.-Y. ., & Lim, S.-Y. . (2011). Analysis of the inorganic component of autogenous tooth bone graft material. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(8), 7442–7445. <http://doi.org/10.1166/jnn.2011.4857>

Kim, Y.-K., Kim, S.-G., Bae, J.-H., Um, I.-W., Oh, J.-S., & Jeong, K.-I. (2014). Guided Bone Regeneration Using Autogenous Tooth Bone Graft in Implant Therapy: Case Series. *Implant Dentistry*, 1(Table 1), 138–143. <http://doi.org/10.1097/ID.0000000000000046>

Kim, Y.-K., Lee, J. K., Kim, K.-W., Um, I.-W., & Murata, M. (2013). Healing Mechanism and Clinical Application of Autogenous Tooth Bone Graft Material. Retrieved from http://www.hipermed.pt/media/product_files/Estudo_clinico_7.pdf

- Kim, Y.-K., Lee, J., Um, I.-W., Kim, K.-W., Murata, M., Akazawa, T., & Mitsugi, M. (2013). Tooth-derived bone graft material. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 39(3), 103–111. <http://doi.org/10.5125/jkaoms.2013.39.3.103>
- Kim, Y.-K., Yun, P.-Y., Um, I.-W., Lee, H.-J., Yi, Y.-J., Bae, J.-H., & Lee, J. (2014). Alveolar ridge preservation of an extraction socket using autogenous tooth bone graft material for implant site development: prospective case series. *The Journal of Advanced Prosthodontics*, 6(6), 521–7. <http://doi.org/10.4047/jap.2014.6.6.521>
- Koga, T., Minamizato, T., Kawai, Y., Miura, K. I., Takashi, I., Nakatani, Y., Sumita, Y. Asahina, I. (2016). Bone regeneration using dentin matrix depends on the degree of demineralization and particle size. *PLoS ONE*, 11(1), 1–13. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0147235>
- Lang, N. P., & Lindhe, J. (2010). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* (5th Edition), Blackwell Munksgaard
- Lang, N. P., & Lindhe, J. (2015). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* (6th Edition), WILEY Blackwell
- Lee, J. Y., Lee, J., & Kim, Y. K. (2013). Comparative analysis of guided bone regeneration using autogenous tooth bone graft material with and without resorbable membrane. *Journal of Dental Sciences*, 8(3), 281–286. <http://doi.org/10.1016/j.jds.2013.03.001>
- Lee, J.-Y., Kim, Y.-K., Yi, Y.-J., & Choi, J.-H. (2013). Clinical evaluation of ridge augmentation using autogenous tooth bone graft material: case series study. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 39(4), 156–160. <http://doi.org/10.5125/jkaoms.2013.39.4.156>
- Lee, S.-H., Erber, W. N., Porwit, A., Tomonaga, M., & Peterson, L. C. (2008). ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *International Journal of Laboratory Hematology*, (August), 349–364. <http://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2008.01100.x>
- Liu, J., & Kerns, D. G. (2014). Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *The Open Dentistry Journal*, 8, 56–65. <http://doi.org/10.2174/1874210601408010056>
- Mazzoni, A., Breschi, L., Carrilho, M., Nascimento, F. D., Orsini, G., Jr, A. R., Pashley, D., Tjäderhane, L. (2012). A review of the nature, role, and function of dentin non-collagenous proteins. Part 1: proteoglycans and glycoproteins. *Endodontic Topics*, (3), 1–18. <http://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00268.x>
- Milinkovic, I., & Cordaro, L. (2014). Are there specific indications for the different alveolar bone augmentation procedures for implant placement? A systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(5), 606–625. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.12.004>
- Miron, R. J., & Zhang, Y. F. (2012). Osteoinduction: A Review of Old Concepts with New Standards. *Journal of Dental Research*, 91(8), 736–744. <http://doi.org/10.1177/0022034511435260>

Miyata Y, Ozawa S, Kojima N, Kondo Y, Matsukawa R, Tanaka Y. An experimental study of bone grafting using rat milled tooth. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:1210-6.

Moharamzadeh K, Freeman C, Blackwood K. Processed bovine dentine as a bone substitute. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2008;46:110e113.

Morjaria, K. R., Wilson, R., & Palmer, R. M. (2014). Bone healing after tooth extraction with or without an intervention: A systematic review of randomized controlled trials. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 16(1), 1–20. <http://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2012.00450.x>

Murata M (2003) Autogenous demineralized dentin matrix for maxillary sinus augmentation in humans: the first clinical report. 81th International Association for Dental Research, Gothenburg.

Murata, M., Kawai, T., Kawakami, T., Akazawa, T., Tazaki, J., Ito, K., Arisue, M. (2010). Human acid-insoluble dentin with BMP-2 accelerates bone induction in subcutaneous and intramuscular tissues. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 118(1378), 438–441. <http://doi.org/10.2109/jcersj2.118.438>

Murata, M., Sato, D., Hino, J., Akazawa, T., Tazaki, J., Ito, K., & Arisue, M. (2012). Acid-insoluble human dentin as carrier material for recombinant human BMP-2. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 100 A(3), 571–577. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.33236>

Nuss, K. M. R., & von Rechenberg, B. (2008). Biocompatibility issues with modern implants in bone - a review for clinical orthopedics. *The Open Orthopaedics Journal*, 2, 66–78. <http://doi.org/10.2174/1874325000802010066>

Pang, K.-M., Um, I.-W., Kim, Y.-K., Woo, J.-M., Kim, S.-M., & Lee, J.-H. (2016). Autogenous demineralized dentin matrix from extracted tooth for the augmentation of alveolar bone defect: a prospective randomized clinical trial in comparison with anorganic bovine bone. *Clinical Oral Implants Research*, 1–7. <http://doi.org/10.1111/clr.12885>

Park, S.-M., Um, I.-W., Kim, Y.-K., & Kim, K.-W. (2012). Clinical application of auto-tooth bone graft material. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 38(1), 2. <http://doi.org/10.5125/jkaoms.2012.38.1.2>

Parsa, A., Ibrahim, N., Hassan, B., van der Stelt, P., & Wismeijer, D. (2013). Bone quality evaluation at dental implant site using multislice CT, micro-CT, and cone beam CT. *Clinical Oral Implants Research*, 26(1), e1–e7. <http://doi.org/10.1111/clr.12315>

Peres, J. A., & Lamano, T. (2011). Strategies for stimulation of new bone formation: a critical review. *Braz Dent J*, 22(6), 443-448.

Qin, X., Raj, R. M., Liao, X. F., Shi, W., Ma, B., Gong, S. Q., Zhou, B. (2014). Using rigidly fixed autogenous tooth graft to repair bone defect: An animal model. *Dental Traumatology*, 30(5), 380–384. <http://doi.org/10.1111/edt.12101>

- Razi, T., Niknami, M., & Alavi Ghazani, F. (2014). Relationship between Hounsfield Unit in CT Scan and Gray Scale in CBCT. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 8(2), 107–10. <http://doi.org/10.5681/joddd.2014.019>
- Ravindran, S., & George, A. (2015). Dentin Matrix Proteins in Bone Tissue Engineering. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 881, 79–94. <http://doi.org/10.1007/978-3-319-22345-2>
- Reis-Filho, C.R., et al., Demineralised human dentine matrix stimulates the expression of VEGF and accelerates the bone repair in tooth sockets of rats. *Arch Oral Biol*, 2012. 57(5): p. 469-76.
- Retzepi, M., & Donos, N. (2010). Guided Bone Regeneration: Biological principle and therapeutic applications. *Clinical Oral Implants Research*, 21(6), 567–576. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2010.01922.x>
- Saeed, K. W., Gataa, I. S., & Garib, B. T. (2015). Fine calcified human dentin particles grafts in experimental bone defects in rabbit femur accelerate bone healing and maturation. *International Journal of Dental Science and Research*, 2(1), 8–13. <http://doi.org/10.1016/j.ijdsr.2015.02.002>
- Smith, A. J. (2003). Vitality of the dentin-pulp complex in health and disease: growth factors as key mediators. *Journal of Dental Education*, 67(6), 678–89. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12856968>
- Smith, A. J., Scheven, B. A., Takahashi, Y., Ferracane, J. L., Shelton, R. M., & Cooper, P. R. (2012). Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Archives of Oral Biology*, 57(2), 109–121. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.07.008>
- Smith, P. C., Martínez, C., Cáceres, M., & Martínez, J. (2015). Research on growth factors in periodontology. *Periodontology 2000*, 67(1), 234–250. <http://doi.org/10.1111/prd.12068>
- Sophia P. Pilipchuk, Plonka, A. B., Monje, A., & Andrei D. Taut, Alejan Lanisdro, Benjamin Kangb, and W. V. G. (2015). Tissue Engineering for Bone Regeneration and Osseointegration in the Oral Cavity. *Dent Materials*, 21(3), 193–201. <http://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.008>. Mitochondria
- Suvarna, S Kim, Layton Christopher & Bancroft, John D (2013), Bancroft's Theory and Praticce of Histological Techniques (7th Edition), Elsevier
- Tabatabaei, F. S., Tatari, S., Samadi, R., & Moharamzadeh, K. (2016). Different methods of dentin processing for application in bone tissue engineering: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.35790>
- Tan, W. L., Wong, T. L. T., Wong, M. C. M., & Lang, N. P. (2012). A systematic review of post-extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL. 5), 1–21. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x>

Tang, D., Tare, R. S., Yang, L. Y., Williams, D. F., Ou, K. L., & Oreffo, R. O. C. (2016). Biofabrication of bone tissue: Approaches, challenges and translation for bone regeneration. *Biomaterials*, 83, 363–382. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.024>

Tjäderhane, L., Carrilho, M. R., Breschi, L., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2009). Dentin basic structure and composition-an overview. *Endodontic Topics*, 20(1), 3–29. <http://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00269.x>

Turri, A., Elgali, I., Vazirisani, F., Johansson, A., Emanuelsson, L., Dahlin, C., Omar, O. (2016). Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment. *Biomaterials*, 84, 167–183. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.034>

Vignoletti, F., Matesanz, P., Rodrigo, D., Figuero, E., Martin, C., & Sanz, M. (2012). Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL. 5), 22–38. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02331.x>

Wang, R. E., & Lang, N. P. (2012). Ridge preservation after tooth extraction. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL.6), 147–156. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2012.02560.x>

Yagihashi, K., Miyazawa, K., Togari, K., & Goto, S. (2009). Demineralized dentin matrix acts as a scaffold for repair of articular cartilage defects. *Calcified Tissue International*, 84(3), 210–220. <http://doi.org/10.1007/s00223-008-9205-7>

Yip, I., Ma, L., Mattheos, N., Dard, M., & Lang, N. P. (2015). Defect healing with various bone substitutes. *Clinical Oral Implants Research*, 26(5), 606–614. <http://doi.org/10.1111/clr.12395>

VIII. ANEXOS

1.



Ex.ma Senhora

Bianca dos Reis Lobato

Monte de Caparica, 5 de janeiro de 2016.

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado "Estudo piloto prospetivo – série de casos de avaliação da regeneração óssea da utilização de um particulado de dentina autógena", foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

2.

Comissão de Ética



Proc. Interno nº 436

Ex.ma Senhora
Bianca dos Reis Lobato

Monte de Caparica, 27 de abril de 2016.

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, sobre um novo local de recolha de dados para o estudo denominado "Estudo piloto prospetivo: série de casos de avaliação da regeneração óssea através da utilização de um particulado de dentina autógena", aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz


Prof.ª Doutora Maria Fernanda de Mesquita

3.



Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_02

Monte de Caparica,

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Unidade Curricular de Orientação Tutorial de Projeto Final do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz sob a orientação do Mestre Alexandre Santos e do Professor Doutor Paulo Maia, solicita-se autorização para a participação no "Estudo piloto prospetivo – série de casos de avaliação da regeneração óssea através da utilização de um particulado de dentina autógena" em pacientes adultos com o objetivo de avaliar clínica, radiográfica e histologicamente a regeneração óssea através da utilização de um particulado de dentina autógena para posterior colocação de implantes orais.

A participação neste estudo é voluntária e implica a sua disponibilidade para comparecer a quatro consultas na Clínica Dentária Egas Moniz, e para realizar uma TAC num centro de radiologia sem qualquer custo. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Este estudo pode trazer-lhe benefícios tais como a utilização dos seus próprios dentes, que apresentam um potencial para regeneração óssea sem ter de recorrer a biomateriais de outros indivíduos da mesma espécie, de espécies diferentes (animal) ou a produtos de origem sintética. Desta forma, a sua participação irá contribuir para o progresso do conhecimento científico na área da regeneração óssea.

Cada participante será reavaliado 1 e 6 meses após a cirurgia para a recolha dos parâmetros de avaliação sistémica e local tanto clínica como radiográfica e para recolha de eventuais efeitos secundários.

Todos os tratamentos cirúrgicos têm os seus riscos, no entanto a taxa de sucesso das reabilitações fixas com implantes ronda os 95%. Quando os implantes são colocados em osso regenerado a taxa de sucesso baixa para os 90%.

A cirurgia de regeneração óssea, está frequentemente associada a um pós-operatório onde uma reação inflamatória pode ocorrer apesar da medicação que será prescrita para o evitar.



Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_02

Caso essa situação aconteça, é provável que o participante experimente algum desconforto associado ao inchaço, possível dor e eventual alteração da cor da pele do rosto próxima ao local operado. Esta situação a ocorrer tende a atenuar a partir do terceiro dia após a cirurgia.

É de salientar que o osso a usar como enxerto ósseo será osso do próprio participante obtido através da preparação dos dentes extraídos num dispositivo apropriado para esse efeito.

Esta técnica cirúrgica está contraindicada em pacientes com qualquer doença sistémica descontrolada, sobretudo aquelas que potenciam as infeções como é o caso da Diabetes Mellitus.

Todos os participantes podem beneficiar com esta investigação clínica na medida em que receberão as cirurgias de regeneração óssea e a realização do exame complementar de diagnóstico (TAC) para determinar a disponibilidade óssea para futura colocação de implantes de forma gratuita.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.

(Riscar o que não interessa)

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)

4. Ortopantomografia Inicial



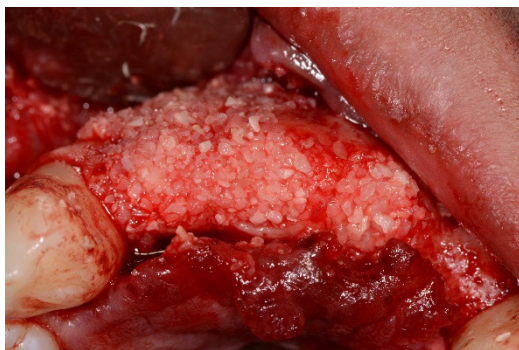
5. Cirurgia da Extração



6. Alvéolos Dentários Pós-Extração



7. Regeneração Óssea através da Utilização de um Particulado de Dentina Autóloga Mineralizada



8. Kit Smar Dentin Grinder®



9. Membrana Bio-Guide® (Geistlich)



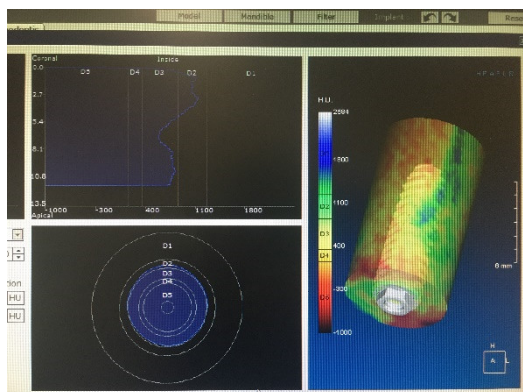
10. Prótese Fixa Adesiva



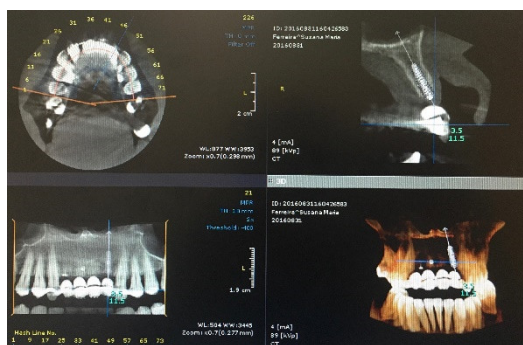
11. Colocação da Prótese Fixa Adesiva



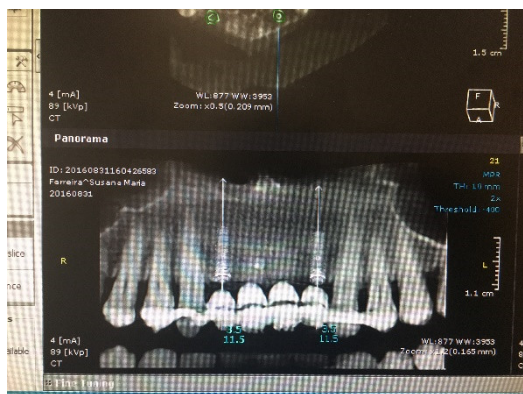
12. CBCT com Unidades de Hounsfield



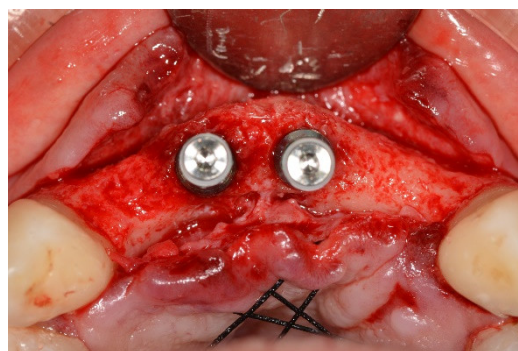
13. CBCT – Planeamento da Colocação de Implantes Orais



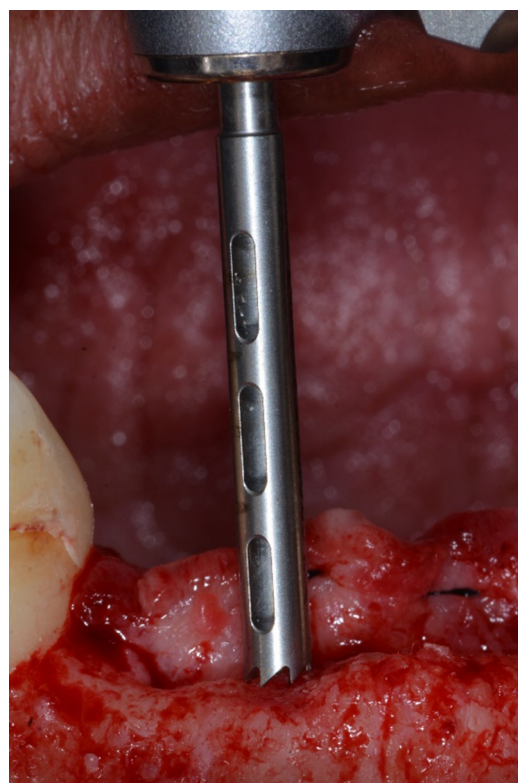
14. CBCT – Planeamento Final da Colocação de Implantes Orais



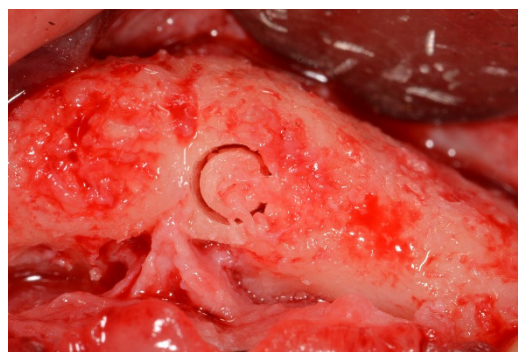
15. Cirurgia de Colocação dos Implantes



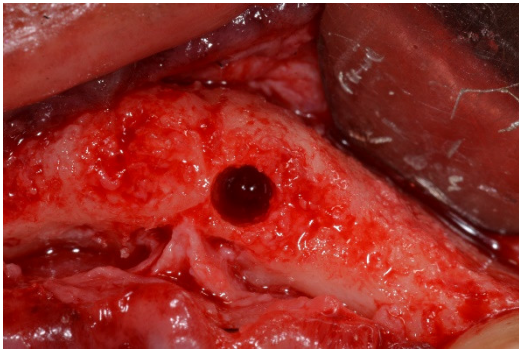
16. Recolha do Fragmento Ósseo com Broca Trefina



17. Fragmento Ósseo Delimitado



18. Leito Implantar Após a Recolha do Fragmento Ósseo



19. Fragmento Ósseo Recolhido



22. Dente Autólogo na Câmara de Trituração da *Smart Dentin Grinder*®



20. Remoção dos Remanescentes de Ligamento Periodontal com Broca Carbide de Tungstênio



21. Dente Autólogo Após Remoção de Remanescentes do Ligamento Periodontal



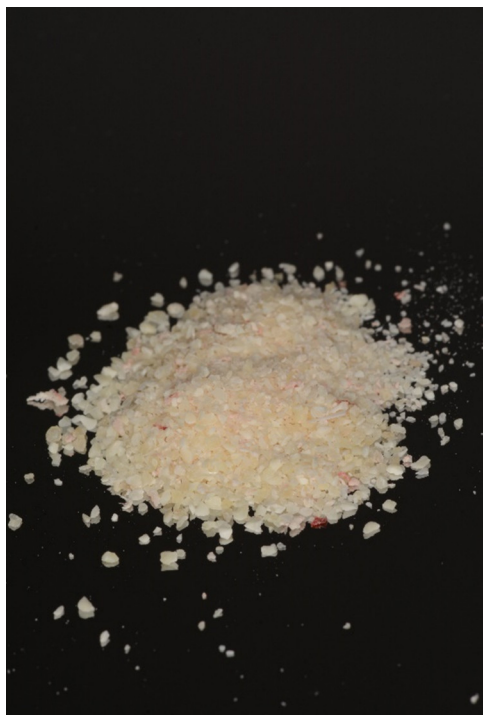
23. Dentes Autólogos antes da Trituração



24. Compartimentos Superior e Inferior da *Smart Dentin Grinder*®, com o particulado e os desperdícios, respetivamente



25. Particulado de Dentina Autógena Mineralizada



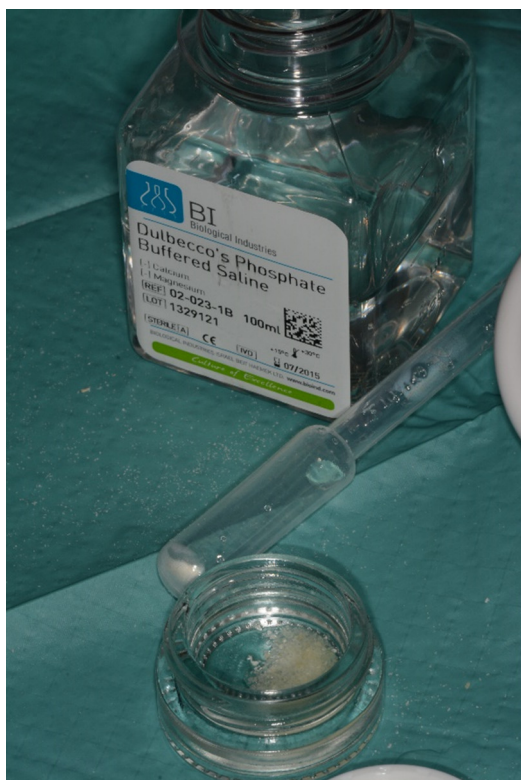
26. Colocação do Particulado no Godé Esterilizado



27. Particulado no Godé Esterilizado



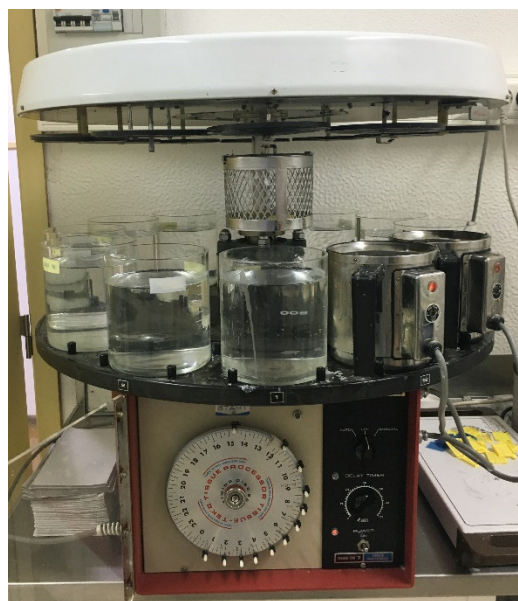
28. Solução Salina Tampão Fosfatada



29. Particulado de Dentina Autógena Húmido e Pronto a Utilizar



30. Processador Histológico Automático



31. Inclusão da Amostra em Parafina



32. Bloco de Parafina Desenformado



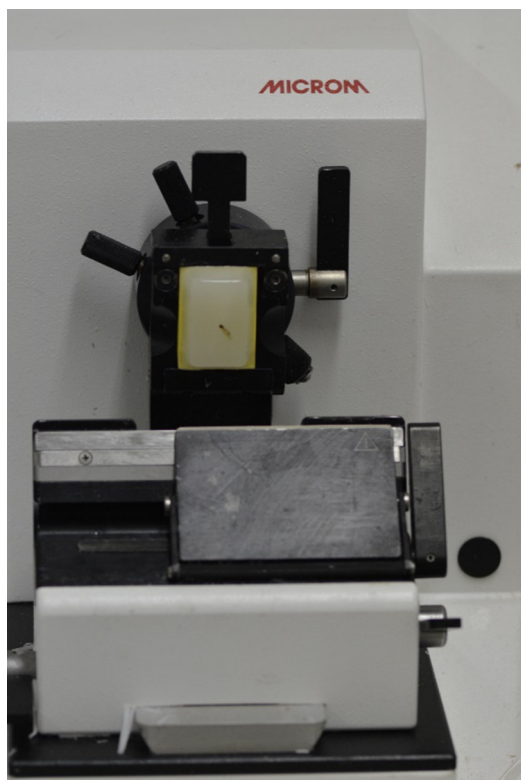
33. Bloco de Parafina com a Amostra



36. Cicatrização Pós-Operatória



34. Micrótomo de *Minot* com o Bloco



35. Coloração com Hematoxilina-Eosina

